UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER **N° 46**

FACULTÉ DE MÉDECINE

CONTRIBUTION
A L'ÉTUDE EXPÉRIMENTALE DES
TOXALBUMINES VÉGÉTALES
(ABRINE — RICINE)

(Travail du Laboratoire de Pathologie interne de l'Ecole de Médecine de Marseille)

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

Le 30 Avril 1910

PAR

M. André SAUVAN

Né à Uzès (Gard), le 28 juillet 1883

ANCIEN INTERNE DES HOPITAUX DE MARSEILLE (CONCOURS 1906)
ANCIEN EXTERNE DES MÊMES HOPITAUX (CONCOURS 1903)
LAURÉAT DU COMITÉ MÉDICAL DES BOUCHES-DU-RHONE
PRIX DES INTERNES 1908 — PRIX RAMPAL 1909

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la Thèse

- GRASSET, Professeur, *Président.*
- RAUZIER, Professeur
- JEANBRAU, Agrégé
- LAGRIFFOUL, Agrégé

Assesseurs.

MARSEILLE
IMPRIMERIE MÉRIDIONALE
119, Boulevard National, 119

1910

UNIVERSITÉ DE MONTPELLIER

N° 46

FACULTÉ DE MÉDECINE

CONTRIBUTION
A L'ETUDE EXPÉRIMENTALE DES
TOXALBUMINES VÉGÉTALES
(ABRINE — RICINE)

Travail du Laboratoire de Pathologie interne de l'Ecole de Médecine de Marseille

THÈSE

PRÉSENTÉE ET PUBLIQUEMENT SOUTENUE DEVANT LA FACULTÉ DE MÉDECINE DE MONTPELLIER

Le 30 Avril 1910

PAR

M. André SAUVAN

Né à Uzès (Gard), le 28 juillet 1883

ANCIEN INTERNE DES HOPITAUX DE MARSEILLE (CONCOURS 1906)
ANCIEN EXTERNE DES MÊMES HOPITAUX (CONCOURS 1903)
LAURÉAT DU COMITÉ MÉDICAL DES BOUCHES-DU-RHONE
PRIX DES INTERNES 1908 — PRIX RAMPAL 1909

ACAD. LUGDUNAE BIBL.

POUR OBTENIR LE GRADE DE DOCTEUR EN MÉDECINE

Examinateurs de la Thèse

GRASSET, Professeur, *Président.*
RAUZIER, Professeur
JEANBRAU, Agrégé
LAGRIFFOUL, Agrégé
Assesseurs.

MARSEILLE
IMPRIMERIE MÉRIDIONALE
119, Boulevard National, 119

1910

PERSONNEL DE LA FACULTÉ

Administration

MM. MAIRET (✲)	DOYEN.
SARDA	ASSESSEUR.
IZARD	SECRÉTAIRE.

Professeurs

Clinique médicale	MM. GRASSET (✲). Chargé de l'enseignement de pathol. et thérap. génér.
Clinique chirurgicale	TEDENAT (✲).
Thérapeutique et matière médicale	HAMELIN (✲).
Clinique médicale	CARRIEU.
Clinique des maladies mentales et nerv.	MAIRET (✲).
Physique médicale	IMBERT.
Botanique et hist. nat. méd.	GRANEL.
Clinique chirurgicale	FORGUE (✲).
Clinique ophtalmologique	TRUC (✲).
Chimie médicale	VILLE.
Physiologie	HEDON.
Histologie	VIALLETON.
Pathologie interne	DUCAMP.
Anatomie	GILIS (✲).
Clinique chirurgicale infantile et orthop.	ESTOR.
Microbiologie	RODET.
Médecine légale et toxicologie	SARDA.
Clinique des maladies des enfants	BAUMEL.
Anatomie pathologique	BOSC.
Hygiène	BERTIN-SANS (H.)
Pathologie et thérapeutique générales	RAUZIER. Chargé de l'enseignement de la clinique médicale.
Clinique obstétricale	VALLOIS.

Professeurs adjoints : MM. DE ROUVILLE, PUECH, MOURET.
Doyen honoraire : M. VIALLETON.
Professeurs honoraires : MM. E. BERTIN-SANS (✲), GRYNFELTT.
M. H. GOT, *Secrétaire honoraire.*

Chargés de Cours complémentaires

Clinique ann. des mal. syphil. et cutanées	MM. VEDEL, agrégé.
Clinique annexe des mal. des vieillards.	VIRES, agrégé.
Pathologie externe	LAPEYRE, agr. lib.
Clinique gynécologie	DE ROUVILLE, prof. adj.
Accouchements	PUECH, prof. adj.
Clinique des maladies des voies urinaires	JEANBRAU, agrégé.
Clinique d'oto-rhino-laryngologie	MOURET, prof. adj.
Medecine opératoire	SOUBEYRAN, agrégé.

Agrégés en exercice

MM. GALAVIELLE	MM. SOUBEYRAN	MM. LEENHARDT
VIRES	GUERIN	GAUSSEL
VEDEL	GAGNIERE	RICHE
JEANBRAU	GRYNFELTT Ed.	CABANNES
POUJOL	LAGRIFFOUL	DERRIEN

Examinateurs de la Thèse

MM. GRASSET, *président.*	MM. JEANBRAU, *agrégé.*
RAUZIER, *professeur.*	LAGRIFFOUL, *agrégé.*

La Faculté de Médecine de Montpellier déclare que les opinions émises dans les Dissertations qui lui sont présentées doivent être considérées comme propres à leur auteur ; qu'elle n'entend leur donner ni approbation, ni improbation.

A MON PERE ET A MA MERE

A MON FRERE

A TOUS MES PARENTS

A MES AMIS

A TOUS MES CAMARADES

A TOUS MES MAITRES

DE L'ÉCOLE DE MÉDECINE ET DES HOPITAUX DE MARSEILLE

A MON PRÉSIDENT DE THÈSE

MONSIEUR LE PROFESSEUR GRASSET

PROFESSEUR DE PATHOLOGIE GÉNÉRALE A LA FACULTÉ DE MONTPELLIER

A. SAUVAN.

CONTRIBUTION A L'ETUDE EXPERIMENTALE

des

TOXALBUMINES VÉGÉTALES

(ABRINE-RICINE)

INTRODUCTION

En 1891, Ehrlich, au cours de recherches expérimentales sur l'immunité, fut le premier à employer, comme agent immunisant, des toxalbumines non microbiennes. Dans ses deux mémoires : Experimentelle Untersuchung ueber Immunität (parus en août et octobre dans le *Deutsche Medicine Wochenschrift*), il expose le résultat de ses expériences, qui lui ont permis de constater les propriétés immunisantes de l'abrine et de la ricine. Depuis lors un assez grand nombre de travaux expérimentaux ont mis en lumière les nombreux points communs entre les toxalbumines végétales et les toxines microbiennes.

Déjà, en 1883, Cornil et Berlioz, après Sattler, avaient rattaché les phénomènes de l'intoxication jéquiritique, qu'ils avaient fort bien vus et décrits, à un bacille spécial, isolé par Sattler.

Chatenay, en 1894, étudiant les réactions leucocytaires vis-à-vis de certaines toxines végétales (abrine, ricine) et microbiennes, et du venin de cobra montre que tous détermi-

nent chez l'animal intoxiqué d'abord de l'hyperleucocytose, puis de l'hypoleucocytose, précédant de peu la mort.

Répin, en 1895, constate que l'abrine, tout comme les toxines microbiennes et les venins, dialyse difficilement.

Les travaux de Calmette, Calmette et Delarde (abrine, ricine) en 1895, ceux de Cruz (ricine) en 1898 montrent la similitude des phénomènes produits dans l'organisme, et des lésions anato-pathologiques déterminées par les toxines microbiennes et les toxines végétales.

Calmette en 1896, au cours d'un grand nombre d'expériences, met en lumière l'action réciproque exercée par certains sérums antitoxiques microbiens contre l'abrine, et du sérum antiabrinique contre les toxines microbiennes et surtout les venins.

Charpentier, dans sa thèse en 1899 montre que les toxines diphtérique et tétanique, l'abrine et la ricine, en injections intra-cérébrales produisent des phénomènes absolument juxtaposables.

Lustig, en 1904, étudie grâce à l'abrine la transmission de l'immunité, des parents à leur progéniture.

Depuis plusieurs mois nous même avons entrepris des recherches sur ces toxalbumines végétales. Mais comme tous les expérimentateurs que nous venons de citer, nous nous sommes surtout occupé de l'abrine et de la ricine, les mieux connues, les plus faciles à se procurer.

D'autres toxalbumines végétales ont cependant été isolées et étudiées : la *phalline*, extraite de l'amanita phalloïdes, la *robine*, du robinia pseudo-acacia, la *crépitine*, de l'hura crépitans, à propos de laquelle tout récemment Richet a signalé des phénomènes d'anaphylaxie.

Il nous a paru utile et intéressant de faire de l'abrine et de la ricine, au point de vue expérimental, une étude d'ensemble, en exposant, dans notre thèse inaugurale, le résultat

des travaux des divers auteurs, ainsi que nos recherches personnelles.

Nous ne voulons pas terminer nos études médicales, sans remercier ici tous nos maîtres de l'école de médecine et de hôpitaux. Ils voudront bien croire à la sincérité de nos sentiments de reconnaissance, pour leur enseignement théorique ou clinique, dont nous avons tâché de nous rendre digne.

Mais il est de notre devoir de remercier d'une façon toute particulière :

M. le Dr Pluyette, chirurgien des hôpitaux, qui le premier nous accueillit dans son service hospitalier, et qui fut pour nous, dans maintes circonstances, un conseiller avisé.

MM. les Professeurs Olmer et Silhol, dont les savantes conférences préparatoires à l'internat, nous ont permis de subir heureusement les épreuves de ce concours.

M. le professeur Oddo, qui dès le début de notre internat, nous reçut dans son service avec tant de bienveillance, et nous ouvrit son laboratoire, où nous avons trouvé le matériel nécessaire à nos recherches.

M. le professeur Olmer, qui nous inspira le sujet de cette thèse, et qui, suivant pas à pas nos expériences, nous a permis par ses conseils autorisés, de mener à bien ce travail.

A tous nous disons bien simplement et très sincèrement: merci.

M. le professeur Grasset nous fait l'insigne honneur d'accepter la présidence de notre thèse. Nous le prions d'accepter nos plus profonds sentiments de reconnaissance, pour cette marque de bienveillance dont nous comprenons tout le prix.

CHAPITRE PREMIER

Origine. — Procédés de préparation. — Propriétés physiques et chimiques. — Doses toxiques

---

1° *Origine.* — Les toxalbumines végétales sont des produits tirés le plus souvent des végétaux supérieurs, phanérogames, comme l'abrine ou la ricine, qui font l'objet de cette étude, et quelquefois des végétaux inférieurs comme la phalline.

L'abrine ou jéquiritine est extraite d'une papillonacée: l'abrus précatorius de Linné ou Jequirity, la liane à réglisse des créoles.

La ricine est extraite du ricinus communis, le ricin bien connu dont on tire l'huile de ricin.

Seules les graines de ces plantes contiennent le produit toxique. C'est avec elles que sont faites toutes les préparations. La ricine a pu cependant être extraite de jeunes tiges âgées de sept jours.

2° *Procédés de préparation.* Ces deux substances sont extraites des graines de ces plantes par des procédés qui varient avec les expérimentateurs, mais qui presque tous, peuvent se ramener à la macération.

Abrine. — C'est le docteur Moura-Brazil (de Rio-Janeiro) qui prépara le premier une macération de jequirity, en vue du traitement de la conjonctivite granuleuse. En France, de Wecker, en 1882, introduisit cette même macération, dans la thérapeutique. Voici sa formule :

« Dix grammes de semences décortiquées et bien pulvérisées que l'on laisse macérer pendant vingt-quatre heures, dans 500 grammes d'eau froide et que l'on filtre ».

De Christmas, Répin, ont employé également des macérations d'abrus qui varient seulement de la précédente par la durée de la macération, la proportion des graines et de l'eau.

Calmette et Delarde ont expérimenté sur une abrine préparée de la façon suivante :

« Dans un appareil à déplacement on fait macérer pendant vingt-quatre heures, de la farine de jequirity avec de l'eau distillée stérile; on déplace ensuite l'eau par l'éther sulfurique, on décante l'éther, et on évapore dans le vide, à basse température, le liquide qui reste dans l'appareil.»

L'abrine ainsi obtenue se présente sous la forme de lamelles écailleuses, d'un vert noirâtre; elle est encore chargée d'impuretés, mais il est difficile de la purifier sans lui faire perdre la plus grande partie de sa toxicité. A l'état sec, elle peut se conserver longtemps.

L'infusion suivante d'abrine a été employée concurremment avec une macération par Cornil et Berlioz dans leurs expériences en1883 : « On place 32 graines (privées de leur épisperme), environ 3 gr. 20 à 3 gr. 40, bien pulvérisées d'abord dans 500 gr. d'eau distillée chaude et on filtre après le refroidissement de la liqueur.»

Cette infusion a des propriétés toxiques sensiblement égales à celles de la macération.

Depuis quelques années la maison Merck, de Darmstadt, extrait du Jéquirity une abrine qui se présente sous l'aspect d'une poudre formée de cristaux d'apparence vitreuse et de coloration brune variable. C'est cette abrine que nous avons utilisée.

Ricine. — La ricine peut également s'obtenir par macération.

Charpentier prend cinquante graines (ricinus sanguineus) dépouillées de leur épisperme, les broie dans une presse entre plusieurs doubles de papier filtre pour leur faire perdre ainsi la plus grande partie de leur huile. La pulpe des graines est alors mise à macérer dans 50 c/c d'eau distillée dans un endroit frais pendant vingt-quatre heures. Le liquide est ensuite filtré sur papier, puis sur une petite bougie Chamberland. Le liquide obtenu est clair comme de l'eau.

Stillmark est parvenu à avoir la ricine à l'état sec en suivant la technique ci-après :

« Des amandes de ricin mondées et bien pressées sont réduites en poudre puis épuisées par une solution à 10 % de NaCl. On sature la colature claire avec du sulfate de magnésie et du sulfate de soude, et on l'abandonne dans un lieu frais. Un précipité blanc facile à séparer se forme au milieu des gros cristaux de sulfate. Ce précipité est soumis à la dialyse pendant six jours en changeant l'eau fréquemment. Finalement on le dessèche sur l'acide sulfurique et on le pulvérise. On obtient ainsi une poudre d'un blanc de neige renfermant encore 10 à 20 % de sulfates.»

G. Cruz reproche au procédé de Stillmark de donner un produit impur et de favoriser la putréfaction de la ricine pendant la dialyse, aussi lui substitue-t-il la méthode suivante plus expéditive :

« Les graines, privées de leur épisperme sont concassées et mises en contact avec le chloroforme pendant vingt-quatre heures afin de les priver des matières huileuses. Au bout de ce temps, le tout est jeté sur un filtre et lavé à maintes reprises par le chloroforme. Après l'évaporation du dissolvant, la masse obtenue est lévigée par l'alcool absolu, au contact duquel elle reste pendant vingt-quatre heures. On filtre, on

lave avec de l'alcool absolu. On prive ainsi les graines de toutes les matières colorantes et on obtient une farine blanche qui, après parfait dessèchement, est épuisée à maintes reprises par le même volume d'eau distillée. Cette solution est traitée par l'alcool absolu qui précipite une matière caséeuse qu'on laisse reposer pendant vingt-quatre heures.

On décante, on dessèche le précipité dans le vide et on le redissout dans l'eau distillée. Cette solution filtrée est de nouveau précipitée par l'alcool absolu. Le précipité est après repos et décantation du liquide surnageant, desséché dans le vide sur une large surface et en présence de l'acide sulfurique. Le produit ainsi obtenu a l'aspect d'une masse vitreuse transparente et très cassante.»

Comme pour l'abrine nous nous sommes servi dans nos recherches de la ricine en poudre préparée par Merck.

3° *Propriétés physiques.* — La *Ricine* de Merck se présente sous l'aspect d'une poudre blanche, légèrement crème, assez légère, homogène. Mise dans l'eau distillée, elle se mélange rapidement plutôt qu'elle ne se dissout, donnant au liquide un aspect opalescent. La solution, pas plus que la poudre, n'a d'odeur ni de saveur bien nettes.

L'*Abrine* de Merck est une poudre de couleur brunâtre; elle est composée de cristaux irréguliers, et de couleur brune variable, à aspect vitreux, qui s'agglomèrent facilement en grumeaux. Mise dans l'eau distillée, cette poudre tombe au fond; par agitation on voit flotter les cristaux qui se vitrifient, mais ne se dissolvent pas.

Il ne s'agit donc pas, quand on parle de solutions de toxalbumines, de vraies solutions mais plutôt d'une suspension. Suivant les conseils de Kobert, nous avons comme les autres expérimentateurs, utilisé des solutions dans l'eau salée à 10 % de NaCl.

Dialyse. — Les toxines microbiennes dialysent mal; il en est de même des toxalbumines végétales, comme l'a montré Répin :

« J'ai fait dissoudre 25 milligrammes d'abrine dans 5 grammes d'eau distillée et j'ai versé cette solution dans le récipient d'un dialyseur, où elle atteignait une hauteur de 2 millimètres; le vase extérieur de l'appareil contenait 60 grammes d'eau distillée. Au bout de quarante-huit heures toute l'eau du vase extérieur ramenée à 15 cc par évaporation dans le vide, a été injectée sous la peau d'un cobaye du poids de 600 gr. Le lendemain le poids de l'animal est tombé à 550 gr., le surlendemain à 540, en même temps que de larges escarres se formaient aux deux points d'injection. Cependant l'animal se rétablit. L'abrine dialyse donc, mais très faiblement, puisque dans cette expérience la quantité qui a franchi en quarante-huit heures et dans des conditions favorables la membrane du dialyseur n'égalait pas la deux cent cinquantième partie du poids total.»

4° *Propriétés chimiques.* — Nous résumons ici les différentes réactions que l'on obtient avec les préparations d'abrine et de ricine; elles leur sont presque toutes communes :

Ebullition : elle produit un trouble suivi d'un précipité, insoluble dans l'acide nitrique à froid, qui le colore en jaune, soluble à chaud dans ce même acide avec dégagement de vapeurs nitreuses.

Le liquide bouilli et filtré précipite par l'acide picrocitrique (réaction des nucléo-albumines).

Acides. — Les acides nitrique, chlorhydrique, tartrique, acétique et lactique, en très petite quantité donnent un précipité blanc soluble dans un excès. Ce précipité se fait dès que la liqueur est rouge au tournesol. Il est soluble dans les alcalis.

Pour Charpentier, l'addition d'un acide à sa macération de ricine ne donne pas de précipité.

D'après Répin, l'addition d'une simple trace d'acide minéral ou organique aux solutions d'abrine donne une teinte verte à la liqueur.

Mélange d'acide acétique et de ferrocyanure de potassium.— Ce réactif donne un précipité blanc qui verdit à l'air. La réaction n'a pas lieu en présence du sulfate de magnésie (réaction des globulines édestines).

Réactif de Millon. — Il donne à froid un précipité blanc et à chaud un précipité violet rougeâtre; le liquide lui-même prend cette couleur.

Réactif du Biuret. — On a la réaction même à froid. (Réaction des peptones, albumoses).

Sous-acétate de plomb, sulfate d'ammoniaque, alcool fort, acétate d'urane. — Tous ces réactifs donnent un précipité blanc.

Tannin, chlorure de platine, phosphomolybdate de sodium. — Tous ces corps donnent d'abondants précipités (réactions communes aux alcaloïdes et aux peptones).

Solution iodo-iodurée.— Cette solution ajoutée, à volume égal, à la solution d'abrine donne un abondant précipité. La liqueur prend l'aspect d'un jaune d'œuf battu.

Lessive de soude. — En présence de cet alcali, le liquide devient vert intense, tout en restant limpide.

D'après ce résumé, on voit que la ricine et l'abrine sont des substances albuminoïdes mal définies. Nous obtenons avec elles les réactions caractéristiques de trois corps différents : peptones, globulines, nucléo-albumines.

On s'est demandé si la ricine et l'abrine étaient des alcaloïdes, des glucosides, des composés cyaniques ou des acides organiques ? Stillmarck, dans une étude magistrale, répond

non sans pouvoir cependant déterminer la nature exacte de ces toxines.

Laissant de côté les discussions d'ordre purement chimique, avec lesquelles nous pourrions essayer de trouver la nature exacte de ces produits, nous adopterons ici l'opinion de l'école de Dorpat, qui fait de l'abrine et de la ricine des ferments amorphes et qui propose de les ranger dans la classe des « phytalbumoses » avec le « B phytalbumose » que Sydney Martin a séparé du suc desséché de l'arica papaya et qui appartient à la classe des ferments non organisés.

5° *Doses toxiques.* — Il est très difficile de déterminer d'une façon exacte les doses toxiques de l'abrine et de la ricine. Les doses données par les divers expérimentateurs sont très variables, et il importe dans les recherches à entreprendre de déterminer le pouvoir toxique de la toxine employée (ce pouvoir varie avec les procédés de préparation, et même avec l'échantillon, avec la date de la solution, etc.) et de tâter la susceptibilité de l'animal en expérience.

D'une façon générale les porcs et les oiseaux sont moins sensibles que les rongeurs, lapins, cobayes, souris. On se heurte de plus aux susceptibilités individuelles.

Au cours de nos expériences ,employant les solutions de produits Merck, nous sommes arrivés à 1/10^{e} de milligramme d'abrine ou de ricine comme dose sûrement mortelle pour un cobaye de 400 grammes. La dose de 1/20^{e} de milligramme s'est montrée inconstante.

Voici quelques doses déterminées par d'autres expérimentateurs :

Boix et Noé, en injections sous-cutanées, ont déterminé la dose mortelle d'abrine; pour un kilo d'animal elle serait :

De 6 milligr., pour donner la mort en 24 heures.
De 2 mil., 8 » » » en 30 »
De 1 mil., 53 » » » en 2 jours.
De 6/10e de mil., » » » en 6 »

doses bien supérieures à celle que nous avons indiquée.

Pour Stépanoff, toujours par kilo d'animal, la dose minimum mortelle serait de six milligrammes en injection intraveineuse, de quatre centigrammes en injection sous-cutanée, alors que dans ce dernier cas Stillmack donne trois centigrammes, et Ehrlich 1 milligramme.

On ne peut donc affirmer qu'une chose : la grande toxicité de ces substances : les doses mortelles par kilo d'animal paraissant osciller autour du milligramme.

Stillmark estime que la dose mortelle de ricin pour un homme de 60 kilos serait de 18 centigrammes.

CHAPITRE II

Agents modificateurs : agents physiques, substances chimiques, sucs digestifs

Nous étudions dans ce chapitre l'effet des divers agents physiques ou chimiques, et des sucs digestifs sur le pouvoir toxique de l'abrine et de la ricine.

1° *Chaleur.* — Comme pour les toxines microbiennes, la chaleur agit sur l'abrine et sur la ricine. Une solution d'abrine chauffée à 65° pendant une heure perd une grande partie de son pouvoir toxique. — Portée à l'ébullition pendant quelques instants seulement elle se montre totalement inactive en injection sous cutanée. Ce fait est facilement mis en évidence : nous avons injecté à un cobaye (n° 36) du poids de 345 gr. deux milligr. d'abrine en solution bouillie le 23 février 1910. Après avoir présenté une légère diminution de poids, ce cobaye s'est rétabli et vit encore à l'heure actuelle, 15 avril; alors que la dose injectée est de beaucoup supérieure à la dose mortelle.

Si l'action de la chaleur à 65° n'est maintenue que quelques minutes, la solution conserve encore son pouvoir toxique, pour le perdre progressivement à mesure que le chauffage se prolonge.

L'action est la même pour la ricine. Charpentier qui voulait expérimenter avec une macération de graines de ricin a été gêné. La chaleur à 100° produisait très rapidement une coagulation intense dans le liquide, de même que

le chauffage à 65° prolongé quelques minutes. Dans ces conditions il n'était pas possible d'injecter cette toxine.

En nous servant des solutions de ricine Merck dans l'eau physiologique nous n'avons pas eu, même à l'ébullition, ce phénomène aussi intense. La solution bouillie présentait à peine quelques légers flocons, qui ne nous ont pas gêné pour l'injection. Or, tandis que le cobaye n° 20, du poids de 350 gr. qui avait reçu 1/20e de milligr. de ricine mourrait trois jours après, le cobaye n° 35 du poids de 315 gr., qui a reçu, le 23 février deux milligrammes de ricine bouillie, soit une dose 40 fois plus forte est encore vivant à l'heure actuelle.

Toutefois cette action de la chaleur ne se manifeste que sur les solutions. En effet il résulte des travaux de l'école de Dorpat, qui tend à faire de l'abrine et de la ricine des ferments amorphes, que, comme ces ferments, ces deux toxines ont la propriété de conserver leur virulence même après chauffage à 100° à condition que la chaleur s'élève progressivement et lentement et que les substances soient absolument sèches.

2° *Lumière.* — La lumière altère rapidement les solutions d'abrine et de ricine. Il importe si l'on veut conserver ces solutions au cours d'expérimentation de les placer en des flacons jaunes dans un lieu obscur. — Calmette a pu constater ainsi l'intégrité de la toxicité au bout d'un mois, et nous-mêmes avons déterminé la mort de cobayes avec des doses minimum mortelles de solutions au 1/1000e remontant à trois semaines et conservées dans ces conditions.

3° *Dessication et vieillissement.* — La ricine séchée en poudre et conservée ainsi perdrait à la longue une partie de son pouvoir toxique.

4° *Putréfaction.* — La toxicité de la ricine n'est nullement détruite par la putréfaction (Cruz).

On a pu extraire des graines réduites à une bouillie putride une ricine très active, et les solutions aqueuses putréfiées et stérilisées par le chloroforme sont encore toxiques.

5° *Iode.* — L'addition aux solutions d'abrine et de ricine d'une quantité égale de liqueur de Gram détermine la formation d'un abondant précipité qui donne à la liqueur l'aspect d'un jaune d'œuf battu. L'expérimentation dans ces conditions est rendue difficile. Calmette a pu cependant constater que l'iode rend inactive cette toxine. L'importance pratique de cette constatation est assez grande. En effet au début de nos expériences nous faisions l'asepsie du point à inoculer par une application de teinture d'iode. La présence de quantités minimes d'iode affaiblissant le pouvoir toxique de ces substances, cette pratique doit être évitée, la piqure pouvant entraîner de l'iode avec l'injection. Il nous est arrivé, chez des animaux en cours d'immunisation, alors que la dose de toxine était augmentée de ne constater aucune réaction, peut-être était-ce du à l'action de l'iode au point d'inoculation.

6° *Acides.* — Comme nous l'avons indiqué précédemment les acides donnent avec les solutions d'abrine et de ricine un précipité blanc dès que la liqueur est nettement acide au tournesol. Dans ces conditions le pouvoir toxique ne semble pas diminué d'une façon notable. De même Cruz a constaté que les acides faibles (HCl à 3 p.1000) même après un contact à l'étuve à 39°, prolongé 48 heures n'ont aucune influence sur le pouvoir toxique de la ricine.

Si la quantité d'acide est plus forte, le pouvoir toxique disparaît. J. Rehns a montré en effet qu'une dose mortelle pour un animal témoin ne tue plus si la solution est acidifiée. Acidifiées, puis neutralisées, même après 24 ou 48 heures, les solutions reprennent leur toxicité.

La solution de ricine employée par Charpentier ne donnait pas de précipité par les acides et son pouvoir toxique était conservé.

7° *Alcalis.* — Leur action est très marquée. Nous avons signalé la teinte verte que prend une solution d'abrine si l'on y ajoute une trace de lessive de soude. Le pouvoir toxique d'une telle solution, ne paraît pas modifié sensiblement dans les expériences de Charpentier.

Si on augmente la quantité de soude on arrive à diminuer le pouvoir toxique, mais la quantité d'alcali rend le liquide très caustique pour l'injection sous-cutanée.

L'action est la même pour la ricine.

8° *Substances fluorescentes.* — Dans un travail de l'Institut de Pharmacologie de Munich, H. V. Tappeiner a montré qu'une solution de ricine mélangée à une solution d'éosine et exposée à la lumière a perdu tout son pouvoir toxique, pusque une quantité de cette solution correspondant à 3 milligr. de ricine incommode à peine les animaux.

Si la ricine est en contact avec l'éosine dans l'obscurité, le pouvoir toxique reste intact.

Un certain nombre d'autres substances fluorescentes agissent de même que l'éosine, mais d'une façon moins intense.

9° *Hyposulfite de Soude.* — Des recherches expérimentales récentes ayant montré d'une part que l'hyposulfite de soude neutralise l'action toxique de différentes nitriles (Meurice, Morishima), d'autre part que la toxicité des albuminoïdes réside surtout dans leur fonction nitrile (Fiquet), on pouvait espérer par suite que l'hyposulfite agirait sur les divers poisons microbiens. Nicolas et Lesieur, en 1900, avaient essayé vainement de neutraliser par ce produit les

toxines diphtérique et tétanique. Deux ans après, Emile Boix et Joseph Noé ont repris ces recherches, mais se sont adressés de plus à l'abrine. Après avoir déterminé la dose médicamenteuse de l'hyposulfite pour les animaux en expérience (0 fr. 10 par kilo), ils ont procédé des quatre façons suivantes :

Les cobayes de la première série reçoivent d'abord une dose mortelle d'abrine en injection intra-péritonéale, puis six heures après environ en injection sous-cutanée l'hyposulfite de soude.

Ceux de la deuxième série sont injectés simultanément à l'abrine et à l'hyposulfite.

Ceux de la troisième série reçoivent l'injection préventive d'hyposulfite, puis six heures après la solution toxique.

Enfin un 4e lot de cobayes est soumis à l'action prolongée de l'hyposulfite de soude, longtemps avant l'intoxication par l'abrine.

Dans tous ces cas le poison s'est montré à peu de chose près aussi sévère qu'en l'absence de tout antidote. Seul un fait constaté dans le plus grand nombre de ces expériences mérite d'être relevé; c'est que « l'administration de l'hyposulfite a permis aux animaux de perdre dans un même temps et sous l'influence d'une même dose de poison, moins de poids que les animaux témoins. Doit-on voir là un commencement d'action neutralisante ou empêchante ? »

10° *Chlorure d'or. — Hypochlorite de soude.* — Les expériences de Calmette ont montré la disparition du pouvoir toxique de l'abrine et de la plupart des toxines microbiennes sous l'influence de ces deux substances.

11° *Lécithine.* — Les recherches expérimentales de de Wœle, H. Meyer et Overton pour les alcaloïdes, celles de Herking, pour le chloroforme ont montré la part importante

qui revient aux lécithines dans la résortpion de ces alcaloïdes et du narcotique.

D'autre part on a montré la propriété que possède à un très haut degré la lécithine de se combiner ou de former des complexes avec toute une série de corps organiques, toxines, venin de cobra, venin d'abeille.

Il y avait là une double raison de rechercher l'effet de la léthicine sur les toxalbulmines végétales. Nous avons injecté à des cobayes, des émulsions aqueuses d'ovo-lécithine Billon, mélangées à des doses mortelles d'abrine et de ricine. Toujours nos animaux sont morts dans le même temps que les témoins.

Il semble donc que la léthicine ne modifie en aucune façon le pouvoir toxique de l'abrine et de la ricine.

12° *Sucs digestifs.* — En lisant les travaux des différents auteurs qui ont étudié l'action des sucs digestifs sur les toxines végétales, on est frappé des résultats contradictoires auxquels ils arrivent.

Hausmann faisant digérer de l'abrine après précipitation par le sulfate d'ammoniaque pendant huit semaines par de la trypsine a obtenu un produit qui ne donne plus la réaction du biuret, mais dont le pouvoir toxique (et agglutinant) n'est nullement modifié. L'abrine résiste donc à la trypsine. Par contre Haussmann montre également que la pepsine et l'acide chlorhydrique enlèvent au poison son action toxique générale (le pouvoir agglutinant résistant encore dans une certaine mesure).

Répin a étudié l'action des sucs digestifs sur l'abrine. Il s'est adressé non plus aux sucs chimiquement préparés, mais à des liquides organiques. Le suc gastrique et le suc intestinal étaient obtenus en raclant la muqueuse de l'estomac ou de la première portion de l'intestin grêle, recueillie

chez des animaux peu après leur mort, et en faisant macérer cette muqueuse dans un peu d'eau.

La salive était, ou bien de la salive humaine fraîchement excrétée, ou bien obtenue par la macération de la glande sous-maxillaire ou de la parotide de chien finement hachée. La préparation du suc pancréatique se faisait de même.

Répin ajoutait aux liquides ainsi obtenus une quantité de macération de Jéquirity n'excédant pas 1/10e de la masse totale et plaçait le tout à l'étuve pendant 24 heures, et voici sa conclusion : « Le pouvoir toxique de l'abrine n'a été ni aboli, ni sensiblement diminué par l'action des liquides digestifs *in vitro;* l'action locale sur la conjonctive n'a présenté que l'atténuation correspondant au degré de dilution de la toxine ».

Une deuxième série d'expériences le conduit au même résultat. Elles consistent à injecter dans des enclaves d'intestin recueillis sur les animaux au moment de leur mort, quelques centimètres cubes de la macération de Jequirity. Ces enclaves sont mises à l'étuve 24 heures, ou bien, après laparotomie de l'animal, à exclure l'estomac ou une portion de l'intestin grêle par deux ligatures et à y insérer la macération. L'animal survit et au bout de 24 heures il est sacrifié. Dans les deux cas, le liquide retiré de ces portions de tube digestif et laissé par conséquent en contact avec les sucs gastriques et intestinaux conserve sensiblement son pouvoir toxique.

De même Sieber et Schimoff-Simanowski concluent que l'érepsine n'est pas capable d'affaiblir l'abrine, même si cette dernière est d'abord traitée par la trypsine et la pepsine.

Frantz Müller constate aussi que la ricine n'est pas, ou très peu modifiée par les sucs digestifs.

Dzierzowsky et Sieber Schoumoff ont publié en 1901 dans les Archives des Sciences biologiques de Saint-Pétersbourg

un important mémoire sur l'action des ferments digestifs sur l'abrine. Ils arrivent à une conclusion toute différente de celle des travaux antérieurs : Glinka, Hellik, Hausmann, Répin, Müller.

Les auteurs russes ont employé des sucs digestifs recueillis directement grâce à des fistules et ils ont constaté que le suc gastrique exerce une action destructive notable sur la toxicité de l'abrine. Cette action varie d'intensité selon la quantité d'abrine et la durée du contact dans des limites variant de 10 à 30 fois. Cette action paraît due surtout à l'HCl du suc gastrique, car HCl pur et dilué produit ce même résultat.

Par contre, et ici tous les auteurs sont d'accord, Dzierzowsky et Sieber-Schoumoff ont constaté que la bile, le ferment de la présure et le suc intestinal, après 24 heures de contact à l'étuve à 37° ne paraissent pas exercer d'action notable sur la toxicité de l'abrine.

Quant au suc pancréatique, son action est notoire, et il rend la toxicité de l'abrine de 5 à 2 fois moindre.

Enfin dans huit expériences les auteurs ont cherché la toxicité du contenu de l'estomac, de l'intestin, des excréments. Ils l'ont trouvé toxique respectivement 7 fois, 3 fois, 4 fois. L'abrine perdrait donc une notable partie de son pouvoir toxique, après son passage dans le tube gastro-intestinal.

Nous croyons donc pouvoir conclure de ces différentes opinions :

1° Que l'abrine (et tout nous porte à croire qu'il en est de même pour la ricine) perd la plus grande partie de son pouvoir toxique dans la traversée digestive.

2° Que cette action destructive paraît être due surtout au suc gastrique et en particulier à son HCl et au suc pancréatique et en particulier à la trypsine.

CHAPITRE III

Effets de l'abrine et de la ricine dans l'organisme : empoisonnement aigu et chronique. — Action sur la peau et sur la conjonctive. — Anatomie pathologique des divers organes.

L'abrine et la ricine ont des effets complètement analogues sur l'organisme. L'étude des symptômes expérimentaux présentés par les animaux intoxiqués par l'une d'elles sera applicable à l'intoxication par l'autre toxine.

I. — Symptômes généraux

1° *Empoisonnement aigu.* — Le poison n'agit pas dès qu'il est introduit dans l'organisme. Il y a une véritable période d'incubation que tous les auteurs et nous-mêmes avons constatée. Ce n'est généralement qu'au bout de 24 heures, que les effets du poison se manifestent, soit par la mort, si la dose est forte, soit par un symptôme morbide quelconque, si elle est tolérable. Au cours de l'immunisation de nos cobayes nous avons fréquemment constaté que l'abaissement du poids des animaux consécutif à l'administration d'une dose plus forte de toxine ne se produisait que 24 heures après l'injection.

Tel est le cas typique de notre cobaye n° 16 qui reçoit le 23 janvier 1/50^{e} de milligr. d'abrine, il pèse ce jour-là 46 gr., le lendemain 465, le surlendemain 450 gr. pour remonter ensuite progressivement à 455, 460, etc. De même le cobaye n° 15 pesant 525 gr., reçoit le 13 janvier, un 1/50^{e} de

milligr. de ricine. Son poids reste le même le lendemain, puis tombe le surlendemain à 520 gr. pour remonter rapidement ensuite.

De même encore la mort des animaux, même avec des doses fortes, ne se produit le plus souvent que 24 heures après l'injection. Nos cobayes 6 et 7 reçoivent respectivement le 4 novembre un milligramme d'abrine et de ricine, doses largement mortelles. Ils succombent l'un dans la nuit du 5 au 6, l'autre le 6 à 11 heures du matin, soit plus de 24 heures après l'injection.

Après cette période d'incubation, si la dose est mortelle, « l'animal se ramasse en boule, devient triste, se blottit dans un coin de la cage, ne se meut pas quand il y est sollicité; il survient du tremblement, de la somnolence, de la faiblesse musculaire, qui devient de plus en plus accentuée, de manière que l'animal ne peut plus se tenir sur les pattes et tombe ». Le plus souvent à ce moment l'animal a quelques convulsions; assez souvent aussi il tombe en coma et meurt. Plus rarement on observe des formes délirantes ou asphyxiques, qui débutent comme les formes précédentes. Seul le tableau final est changé par la prédominance d'un symptôme. Enfin dans une série de cas tout à fait exceptionnels « l'animal semble se porter très bien quand la mort survient subitement à la suite d'un effort quelconque (un animal est mort pendant qu'on prenait sa température) ».

On a signalé également la chute de la pression sanguine, la paralysie de l'arrière-train, manifestations de lésions médullaires.

Les urines contiennent toujours de l'albumine et des cylindres hyalins, épithéliaux et quelquefois hémorragiques, que l'on constate par l'examen microscopique. En outre, elles sont de plus en plus rares au fur et à mesure qu'on se rapproche de la mort.

Pas plus que Cruz nous n'avons observé de diarrhée au cours des intoxications par la ricine et par l'abrine chez les cobayes; tandis que Ehrlich et Chatenay ont constaté au cours de leurs expériences de la diarrhée dès la 3e ou 4e heure, quelquefois plus tard à la 12e.

La température reste parfois normale, mais on observe souvent une élévation qui peut atteindre 39° à 40°. Quand l'animal commence à se ramasser en boule, elle baisse en général jusqu'au moment de la mort, où l'on constate une hypothermie considérable pouvant atteindre 8 ou 9 degrés centigrade au dessous de la moyenne normale (Cruz).

Le poids de l'animal baisse, mais cet abaissement ne se manifeste habituellement qu'après la période d'incubation, comme nous venons de le montrer. Il est très rapide; des animaux morts en 48 heures ont eu une baisse de poids pouvant atteindre jusqu'à 10 ou 12 % du poids total. Notre cobaye n° 20 qui avait reçu 1/20e de milligr. de ricine pesait 355 gr. au moment de l'injection, il meurt trois jours après ne pesant plus que 300 gr., soit une perte du 1/6e environ du poids total.

2° *Empoisonnement chronique.* — On peut décrire sous ce titre les cas dans lesquels la dose de toxine amène la mort de l'animal en deux ou trois semaines.

Dans ces cas « quelques jours après l'injection, l'animal perd du poids et commence à dépérir, il survient des atrophies musculaires, des parésies du train postérieur, l'animal marche accroupi. Quelquefois on constate de l'hémiplégie. L'animal cachectisé extrêmement amaigri, meurt dans le coma. L'urine contient de l'albumine.»

II. — Symptômes locaux.

1° *Action sur la peau.* — Elle est la même pour l'abrine et la ricine.

« Au point d'inoculation de la toxine végétale, il se produit plusieurs jours après chez l'animal qui résiste une induration, puis une ulcération plus ou moins étendue suivant le degré de la solution », par élimination d'une véritable plaque de sphacèle. En même temps que cette escarre s'élimine, les poils tombent autour de l'ulcération formant une couronne alopécique autour du point d'inoculation.

Dès la chute de l'escarre on voit nettement une tendance à la réparation. La cicatrisation se fait en général très vite. C'est là un symptôme qui permet d'entrevoir l'issue favorable de l'intoxication. Cette tendance à la cicatrisation spontanée et rapide est remarquable. Une femelle pleine dont l'abdomen était distendu, et que nous avions inoculée sous la peau de cette région eut une ulcération très vaste de 10 centimètres de longueur sur 3 centimètres de largeur dans le centre. Cette vaste perte de substance se répara très vite en ne laissant à l'heure actuelle qu'une ligne cicatricielle, surtout visible par l'absence de poils.

Quand l'injection est faite près de la racine des membres, l'œdème sanguinolent qui se produit détermine une parésie par gêne des mouvements dans les membres, qu'il faut distinguer des paraplégies des dernières heures dans l'empoisonnement mortel.

Cette action sur la peau a fait en 1883 l'objet de recherches de Cornil et Berlioz qui rattachaient tous ces phénomènes au bacille spécial du Jequirity isolé par Sattler. En opérant avec des solutions stériles, on démontre que seule la toxine déterminait ces accidents.

2° *Action sur les muqueuses.* — Elle a été surtout étudiée pour l'abrine à propos de la conjonctive, les propriétés irritantes de cette toxine sur cette muqueuse ayant été utilisées dans un but thérapeutique contre le trachome. Nous décrirons rapidement cette conjonctivite Jéquiritique.

Généralement dans les vingt-quatre premières heures qui suivent le premier badigeonnage, l'ophtalmie se déclare. Si la conjonctive a déjà été traitée et cautérisée, l'inflammation jéquiritique peut être retardée ou incomplète. Elle s'accompagne de symptômes généraux : fièvre 39°, céphalalgie, vomissements.

On voit d'abord se dessiner sur la conjonctive une fine arborisation vasculaire qui s'accentue. Toute la conjonctive est d'un rouge violacé et uniforme, et épaissie.

La douleur est constante et a nécessité quelquefois la morphine comme calmant.

Le larmoiement commence en même temps que l'injection conjonctivale; la sécrétion est abondante. Le liquide d'abord limpide, devient louche, puis séro-purulent, puis franchement purulent.

Le gonflement des paupières est très intense; la conjonctive turgescente se recouvre d'une membrane croupale plus ou moins épaisse.

Au microscope, cet exsudat est composé d'une agglomération de globules blancs soudés entre eux par de la fibrine. Il n'est pas toxique, et ne détermine aucune réaction conjonctivale.

De Wecker a divisé la marche de cette ophtalmie en trois périodes: période d'irritation, 3 jours; période de suppuration, 5 jours; période de résolution, 10 jours.

Les accidents de cette ophtalmie, kératite, perforation, opacité de la cornée, l'ont fait rejeter de la thérapeutique du trachome comme la méthode de l'instillation du pus blennorragique.

III. — Anatomie pathologique de l'empoisonnement par la Ricine et l'Abrine

Les lésions macroscopiques des organes produites par

l'intoxication expérimentale des animaux par l'abrine et la ricine sont remarquables et caractéristiques. Nous avons pu, après d'autres auteurs, les constater plusieurs fois.

Flexner, en 1897, a étudié l'histologie pathologique des intoxications expérimentales. Cette étude a été reprise d'une façon très complète, en ce qui concerne la ricine, au cours d'expériences judicieusement conduites par G. Cruz en 1898, dans un travail du laboratoire de toxicologie de Paris.

Cet auteur a opéré sur des cobayes et sur des lapins, en faisant varier au maximum les conditions de l'expérience. Les organes ont été recueillis le plus tôt possible après la mort de l'animal, puis soigneusement fixés, le plus souvent par une solution saturée de bichlorure de mercure dans l'eau physiologique, ou par la liqueur chromo-acétique de Flemming. G. Cruz a même fixé et recueilli sur un animal malade les organes vivants. Les inclusions ont été faites dans la paraffine et surtout dans la celloïdine. Les colorations étaient appropriées à chaque sorte d'organe. Les pièces fraîches ont été coupées au microtome après congélation obtenue par un jet de chlorure d'éthyle.

Nous décrirons ensemble les altérations produites par les deux toxines; tous les auteurs s'accordant pour les trouver identiques.

1° *Appareil circulatoire.*

Péricarde. — Il est quelquefois le siège d'un épanchement séreux ou sanguinolent.

Myocarde. — Au microscope, le myocarde présente dans certains cas un aspect semblable au processus décrit par Renaut et Mollard (J. Mollard, de la Myocardite segmentaire essentielle, thèse Lyon 1889), sous le nom de *myocardite segmentaire* essentielle. Elle est caractérisée par « l'apparition insolite de traits de ciment élargis qui mettent en évidence les segments de Weissmann ». Une autre altération

histologique très fréquente réside dans la formation de granulations colorées d'une façon intense par l'éosine pendant que la striation devient moins apparente et peut même s'effacer. Il y a en somme un *état granuleux* semblable à celui décrit par Mollard et Regaud dans la myocardite diphtérique.

En outre, on constate des vacuoles dans le protoplasma cellulaire, particulièrement autour des noyaux, tandis que ceux-ci sont vésiculeux.

Vaisseaux. — Les vaisseaux, et tout particulièrement les veines du foie et des ganglions lymphatiques ont leur paroi devenue épaisse, transformée en une masse hyaline, uniformément colorée par l'éosine, et au milieu de laquelle on ne peut reconnaître les éléments histologiques.

Sang.— Dans les vaisseaux particulièrement et profondément altérés ainsi et surtout dans ceux (foie, ganglions lymphatiques, poumons) où la circulation est lente, on voit des masses sanguines formées par l'accolement et la fusion des hématies selon le mécanisme que nous décrirons à propos de l'action *in vitro*.

La fibrine existe dans ces masses sanguines intra-vasculaires, et est décelable par la méthode de Weigert.

Ganglions lymphatiques. — Les plus altérés sont ceux de la zône d'inoculation et les ganglions mésentériques. Les lésions consistent en : nécrose des cellules, congestion intense et même hémorrhagies.

2° *Appareil respiratoire.*

Plèvre. — Comme le péricarde, elle peut présenter de l'épanchement séreux ou sanguinolent.

Poumons. — Si l'animal intoxiqué a présenté des phénomènes d'asphyxie, les poumons sont le siège d'une hyperhémie intense, avec en certains points des infarctus.

Tout le tissu pulmonaire est envahi, infiltré par des

leucocytes en si grand nombre qu'ils gênent l'examen du tissu pulmonaire dans la préparation.

3° *Appareil urinaire.*

Reins. — L'empoisonnement par la ricine produit des lésions rénales, déjà décrites par Kobert; elles portent surtout sur l'épithélium qui est tuméfié au niveau des *tubuli contorti*, ou même parfois détaché au niveau des tubes droits. Les cellules de cet épithelium détaché sont éclatées, leurs débris forment des cylindres que l'on retrouve dans les urines.

On constate en outre quelquefois de petites extravasations sanguines pouvant déruire en certains points la substance du rein et donner lieu à la formation de cylindres hémorragiques dans les urines.

Capsules surrénales. — Elles présentent surtout des lésions d'hyperhémie et d'hémorragie.

4° *Appareil digestif.*

Peu intenses au niveau de l'*estomac*, où l'on constate surtout une congestion des cellules épithéliales, les lésions sont au contraire, très profondes au niveau de l'intestin.

Intestin. — Macroscopiquement on voit un intestin, surtout l'intestin grêle, fortement congestionné; sa couleur est par place violette, presque noire, tellement est intense cette congestion. Les vaisseaux se dessinent en fines arborisations à sa surface. Les points les plus congestionnés sont les plaques de Peyer, la poche glanduleuse (grosse plaque de Peyer qui se trouve au point d'abouchement de l'intestin grêle dans le gros intestin), le cul de sac du cœcum qui est tapissé de follicules clos.

Histologiquement, au milieu de nombreuses hémorragies de la paroi de l'intestin, on constate des altérations des cellules épithéliales qui sont comme éclatées et réduites à un amas de petites granulations se colorant d'une manière intense par l'éosine. De même on trouve ici, comme dans le

rein, une infiltration énorme de leucocytes qui peut, dans certains points, prendre les caractères d'un véritable petit abcès. Ces abcès pourraient donner naissance à des ulcérations intestinales, signalées par Kobert et Stillmark et que Cruz n'a pas vues, du moins chez les animaux, cobayes et lapins sur lesquels il expérimentait.

A côté de ces cas où les lésions intestinales sont si marquées, on en trouve d'autres où elles sont peu marquées ou mêmes absentes, comme dans le cas de notre cobaye n° 8, décédé vingt-quatre heures après l'administration d'un milligramme d'abrine.

Foie. — Il s'agit ici d'une véritable *nécrose* des cellules hépatiques formant des foyers qui correspondent aux taches blanchâtres que l'on voit à l'œil nu. Dans ces foyers, les cellules ont leurs contours plus ou moins flous. Leur noyau ne se colore pas ou à peine. En d'autres points le protoplasma granuleux, trouble, vacuolé indique des altérations moins intense.

Comme ailleurs, ici encore, des hémorragies se voient dans le parenchyme hépatique venant des altérations si grandes des parois des vaisseaux, veineux en particulier, dont nous avons parlé plus haut.

On peut également trouver du sang à l'intérieur des canaux biliaires qui ne paraissent pas d'ailleurs présenter d'autres altérations.

Rate. — Les corps de Malpighi sont peu touchés. Les cellules de la pulpe sont par contre, en certains points, tout à fait détruites, et réduites à une « poussière protoplasmique. »

5° *Centres nerveux.* — Berkley, en 1896, dans le *Médical Record*, a étudié les lésions expérimentales produites par la ricine sur l'écorce nerveuse.

G. Charpentier, dans sa thèse en 1899, a montré qu'à côté de ces altérations, sur les divers organes, l'abrine et la

ricine agissent aussi sur la cellule nerveuse. Il suffit d'une dose cent fois moindre de ricine pour tuer un lapin de deux kilos, si la toxine est injectée dans les centres nerveux au lieu de l'être sous la peau.

Il se produit au point d'inoculation un foyer de ramollissement qui est bien dû à la toxine, car si on injecte une solution chauffée à 100°, ces lésions ne se reproduisent pas.

Dans quelques cas, ces grosses lésions macroscopiques manquent, (injection dans les ventricules), c'est que l'action s'est étalée sur une vaste surface au lieu d'être localisée en un point.

6° *Point d'inoculation.* — On y voit un œdème sanguinolent contenant des masses sanguines altérées et une intense infiltration leucocytaire.

CHAPITRE IV

Effets de l'abrine et de la ricine sur l'organisme (suite). Réactions leucocytaires. — Elimination.

I. Réactions leucocytaires.

Les réactions leucocytaires dans les intoxications par l'abrine et la ricine ont été étudiées par Chatenay dans sa thèse à Paris en 1894 sur « les réactions leucocytaires vis-à-vis de certaines toxines végétales et animales ».

Il importait de bien montrer que les modifications de la forme leucocytaire étaient dues à la toxine seule et non à des infections surajoutées. Les piqûres étaient pratiquées chez les animaux avec toutes les précautions antiseptiques. Les solutions d'abrine et de ricine Merck étaient faites dans une solution de NaCl stérilisée à l'autoclave. Enfin, Chatenay a toujours vérifié, à la mort de l'animal, la stérilisation de ses solutions par la culture sur gélose ou sur gélatine du sang extrait du cœur.

Il semble donc bien, avec toutes ces précautions, avoir observé les réactions leucocytaires exclusivement dues aux substances toxiques agissant sur l'organisme. Le procédé le plus simple de numération avec l'hématimètre de Hayem a permis de constater que toujours, au cours de l'immunisation, il y a hyperleucocytose légèrement supérieure à la normale. Sous l'effet de nouvelles doses fortes l'animal immunisé ne réagit plus ou presque plus; plus il est immunisé, moins il réagit, mais toujours en hyperleucocytose.

Chez l'animal neuf qui reçoit une dose mortelle, les réactions diffèrent si la mort survient rapidement ou pas. Si le cobaye meurt en moins de vingt-quatre heures, il y a hypoleucocytose : les leucocytoses ne peuvent résister; si l'animal résiste quarante-huit heures, il y a hyperleucocytose d'abord, puis hypoleucocytose et mort.

Les résultats obtenus avec l'abrine et la ricine sont exactements superposables.

Voici résumée l'observation du cobaye J, de Chatenay, qui donnera un exemple de ces phénomènes :

Le 10 novembre 1893, le cobaye J pèse 430 gr. et reçoit 0 mgr. 01 d'abrine, il a 4 000 globules blancs par millimètre cube.

Du 11 au 17 novembre, il reçoit en doses progressives quotidiennes le total de un milligramme d'abrine.

Le 18 novembre, pas d'injection, état languissant, poids 387 gr; 9.500 globules blancs.

Le 20 novembre : poids 340 gr.

Le 21 novembre : poids, 350 gr.; 8.000 globules blancs.

Le 23 novembre : poids 395 gr.; 11.500 globules blancs on injecte deux milligrammes d'abrine.

Le 24 novembre : 10.000 globules blancs.

Le 25 novembre : poids, 365 gr.

Le 26 novembre : poids, 420 gr.

Le 30 novembre : 4.500 globules blancs.

Stepanow a montré de plus, en 1900, que cette hyperleucocytose se faisait surtout aux dépens des polynucléaires, et que son maximum se présente d'une manière presque critique à la fin de la première semaine. Elle se serait manifestée un plus tardivement dans l'observation ci-dessus, exactement au treizième jour.

D'après Stepanow également, elle coïnciderait avec l'apparition de l'immunité.

Calmette et Delarde ont essayé de se rendre compte des effets immédiats de l'abrine sur les leucocytes. Dans ce but, afin de pouvoir déceler dans les organes ou les cellules, la présence de cette toxine, ils ont préparé une émulsion de noir animal abriné. Cette émulsion est injectée dans le péritoine de cobayes neufs ou vaccinés; les premiers meurent en quarante-huit heures.

Deux heures après l'injection, l'exsudat péritonéal est prélevé avec une pipette et examiné après coloration à l'éosine et au bleu de méthylène.

« Dans l'exsudat des cobayes vaccinés on trouvait tous les grains de noir englobés dans des leucocytes éosinophiles. et dans des grands leucocytes mononucléaires neutrophiles. Beaucoup de leucocytes polynucléaires étaient littéralement bondés de granulations noires.»

« Au contraire dans l'exsudat des cobayes non vaccinés, quelques granulations seulement étaient absorbées par les globules. Le plus grand nombre restait libre. La différence d'aspect des préparations était très nette.»

Si cet exsudat, où les granulations sont libres, est injecté à un cobaye vacciné, l'exsudat péritonéal de ce dernier cobaye prélevé deux heures après, les montre toutes englobées.

« Il est donc évident que, chez les animaux vaccinés ou traités préventivement par le sérum antiabrique les grains de noir animal imprégnés d'abrine exercent une chimiotaxie positive et sont englobés par les leucocytes, tandis que chez les cobayes neufs, ils ne subissent pas l'englobement, laissent diffuser peu à peu l'abrine qu'ils renferment, et donnent la mort.»

II. — Elimination.

Par où l'abrine et la ricine s'éliminent-elles une fois introduites dans un organisme ?

1° *L'abrine et la ricine s'éliminent par l'intestin.*

Il est logique en voyant les énormes lésions anatomo-pathologiques de l'intestin, de penser que c'est par le tube digestif que l'organisme se débarrasse de ces poisons. Cette hypothèse est confirmée par les travaux de Stepanoff pour la ricine et par ceux de Calmette et Delarde pour l'abrine.

Un lapin reçoit une dose de ricine de beaucoup supérieure à la dose mortelle, 1 mgr. 5 par exemple, et meurt en neuf à dix heures après avoir présenté une forte diarrhée. Dans son intestin qui est le siège de la forte hyperhémie habituelle, on recueille « jusqu'à 30 cc d'une liqueur mucilagineuse alcaline d'une nuance légèrement janâtre, qui se filtre très bien par le filtre Chamberland. La liqueur filtrée se montre très toxique pour les lapins : 25 cc de cette liqueur tuent un lapin de deux kilogrammes en trente heures, en donnant les phénomènes de l'empoisonnement par la ricine, si caractéristiques en ce qui concerne l'affection des intestins. 20 ou 15 cc tuent à peu près en quarante-huit heures, et 10 cc en cinq jours : les doses inférieures provoquent une maladie passagère : les lapins ont la diarrhée, perdent du poids, mais se remettent bientôt et survivent. »

Expérimentant avec l'abrine, Calmette a recueilli tout le contenu de l'intestin grêle d'un lapin fortement intoxiqué (10 milligrammes en injection intra-veineuse) et a fait macérer ce produit pendant vingt-quatre heures à la glacière dans l'eau distillée stérile. Ce liquide est filtré à la bougie Chamberland et évaporé dans le vide à basse tempéradans l'eau distillée stérile. Ce liquide est filtré à basse tempéture. Le résidu a été redissous dans une petite quantité d'eau. Les souris succombent en quarante-huit heures à l'injection d'un 1/2 cc de cette solution d'extrait intestinal.

Ainsi donc le contenu intestinal des lapins intoxiqués par la ricine et par l'abrine contient une substance toxique

pour les lapins et pour les souris. Cette substance toxique est-elle bien la ricine, ou l'abrine, qui s'élimine par cette voie ? L'état de l'intestin, la parfaite stérilité de la liqueur filtrée, le font croire ; les expériences de vérification suivantes le prouvent.

Stepanoff a montré :

1° Que la diarrhée artificiellement provoquée chez le lapin par l'introduction de vingt grammes de sulfate de soude dans son intestin ne contient pas de substance toxique bien active, puisque 30 cc de la liqueur obtenue en filtrant ce produit diarrhéique ne tue pas le lapin.

2° Que 15 cc et même davantage du liquide obtenu en filtrant le contenu intestinal des animaux tués par la ricine ne produisent aucun effet sur les lapins immunisés contre la ricine, alors que 10 cc seulement de ce liquide suffisent à tuer un lapin neuf.

De même 1/2 cc de la solution d'extrait intestinal préparée par Calmette, mélangé à 1 cc de sérum antiabrique n'influence nullement les souris.

La ricine ne se trouve pas seulement dans le contenu intestinal mais encore dans les parois mêmes de l'intestin. « Après avoir débarrassé le canal intestinal du lapin tué par la ricine de son contenu liquide et après l'avoir lavé soigneusement avec de l'eau distillée, on le coupe en petits morceaux et on le broie dans un mortier avec 20 cc d'une solution physiologique de NaCl ; on obtient une masse gluante et mucilagineuse, laquelle exsude à sa surface un liquide transparent après un repos de vingt-quatre heures. Ce liquide, filtré par le filtre Chamberland étant injecté sous la peau d'un lapin sous le volume de 15-10 cc le tue en quatre ou cinq jours avec les phénomènes de l'empoisonnement par la ricine.»

« Cela prouve que la ricine introduite dans l'organisme

passe dans le canal intestinal où elle produit les lésions pathologo-anatomiques connues. Il est évident que ce passage se fait en grande quantité, car la dose de ricine qui se trouve dans les 10 cc du contenu intestinal représente à peu près le vingtième de toute la quantité de ricine introduite dans l'organisme et on peut admettre que la presque totalité du poison, s'élimine par cette voie, si l'on songe à l'intensité de la diarrhée qui se déclare habituellement une heure après l'injection.»

2° *Y a-t-il d'autres voies d'élimination?*

« Ce poison (la ricine) s'élimine-t-il de l'organisme par d'autres voies, par exemple par les *reins?* Les examens de l'urine en ce sens donnent des résultats négatifs. Dans les deux ou trois premières heures après l'empoisonnement on peut retirer de la vessie du lapin une assez grande quantité d'urine au moyen d'un cathéter stérilisé. Cette urine, injectée en volume de 5 cc sous la peau d'un cobaye (l'animal le plus sensible à la ricine d'après Ehrlich), ne produit aucun effet apparent; deux centimètres cubes ne font aucun mal à une souris (1 cc de la solution de ricine à 1/200.000e tue une souris de vingt grammes en deux à quatre jours).»

« Dans les heures suivantes, la quantité d'urine du lapin empoisonné diminue considérablement; on peut en recueillir à peine 1/2 à 1 cc et enfin, après la mort, la vessie se trouve vide et contractée. Ainsi on peut penser que la ricine ne s'élimine pas par l'urine, au moins en quantité évaluable physiologiquement.»

Calmette, pour l'abrine, et nous-même pour la ricine, avons pu vérifier que l'urine des animaux intoxiqués ne produit également aucun effet toxique, et ne contient par conséquent pas d'abrine ni de ricine. Ainsi, notre cobaye n° 10 qui reçoit 0 mg. 053 de ricine meurt dans la nuit du 25 au 26 décembre. La moitié, soit 1 cc de l'urine trouvée dans sa vessie et recueil-

lie aseptiquement, est injectée sous la peau du cobaye n° 24, du poids de 310 grammes, qui ne s'en trouve nullement incommodé.

Ces toxines végétales passent-elles dans le *sang?* Oui; la ricine dès son absorption passe dans le sang où on la retrouve jusqu'à ce qu'elle soit éliminée par l'intestin dans le liquide intestinal. Le sang d'un lapin intoxiqué par une forte dose (1 milligramme 5) recueilli deux, quatre, six heures après l'injection à d'autres lapins ou à des souris a toujours été toxique. Et le sang d'un lapin ayant reçu une faible dose (0 mg. 03) ne s'est nullement montré toxique 24 heures après l'injection.

De même Calmette et Delarde ont montré que le sang du cœur d'un lapin ayant reçu 10 milligr. d'abrine par voie intra-veineuse et mort 36 heures après est toxique à la dose d' 1/2 cc. pour les souris que cette dose tue en 48 heures.

Par conséquent on peut croire que la ricine et l'abrine circulent dans le sang pendant un certain temps avant de s'éliminer par le canal intestinal.

Le poison ne passe-t-il pas également dans les autres organes : *foie*, *rate*, reins, *glandes lymphatiques ?* Des extraits de ces organes recueillis aseptiquement dès la mort chez des animaux intoxiqués sont préparés par broiement dans l'eau physiologique, puis filtration par le filtre Chamberland. Injectés aux souris par Stépanoff, ces extraits ne se sont jamais montrés toxiques.

Deux ans après ces dernières recherches de Stepanoff 1896) pour la ricine, Cruz expérimentant avec la même toxine a inoculé des extraits aseptiques d'organes d'animaux empoisonnés par la ricine. Il a constaté ainsi la toxicité des extraits de reins, d'intestin et de foie d'animaux intoxiqués, alors que les mêmes extraits d'animaux morts d'autres lésions ne se sont pas montrés toxiques.

Quatre ans plus tard, en 1900, Stassano employant un procédé nouveau et rapide d'extraction des nucléo-albumines (procédé d'Aliburton) a pu extraire des toxines des tissus, extraction demeurée jusqu'alors irréalisable. Ses premières expériences ont portés sur la ricine qu'il est arrivé à extraire chez les animaux intoxiqués, du foie, de la rate et des reins.

« De 500 grammes de foie, rate et reins d'un chien injecté dans les veines avec un 1/2 gramme de ricine j'ai obtenu, écrit-il, une quantité assez grande de nucléo-albumines, lesquelles m'ont donné une dissolution très chargée dans environ 200 cc. de solution de carbonate de soude à 1 p. 100. Un 1/2 cc. de cette dissolution a tué des souris en moins de 12 heures avec l'intense hypérémie intestinale de l'empoisonnement ricinique; le sang du cœur était stérile. Cette solution passant à travers la bougie Chamberland, pour la rendre aseptique, devient excessivement étendue parce que les nucléo albumines filtrent très mal; cependant elle tue encore les souris en trois à quatre jours à la dose de 1 cc. 5. Les souris témoins injectées avec une dose plus forte (2 cc.) d'une solution de nucléo-albumines identique, mais exempte de combinaisons toxiques ont survécu à l'expérience. »

Poussant plus loin ses recherches, Stassano est arrivé à dégager par électrolyse de cette solution de nucléo-albumines la ricine à laquelle elle doit sa toxicité. Il est arrivé après une série de manipulations assez longues à avoir une solution de ricine, aseptisée par filtration à la bougie dont le pouvoir toxique est assez grand pour que 6 cc. tuent un cobaye de 500 gr. en moins de douze heures.

En résumé, s'il est logique, après les expériences de Stépanoff et de Calmette et Delarde, d'admettre que la ricine et l'abrine passent d'abord dans le sang, puis s'éliminent de là par l'intestin en grande quantité, nous devons, après les expé-

riences de Cruz et de Stassano, plus récentes et faites avec des méthodes plus perfectionnées, admettre que le foie, la rate, les reins éliminent également une partie du poison.

CHAPITRE V

Immunité : immunité naturelle; immunité acquise; immunité artificielle non spécifique. — Transmission de l'immunité des parents à leur progéniture.

C'est Ehrlich qui, le premier, en 1891, a montré que les toxalbumines végétales — la ricine, l'abrine — possèdent au point de vue de l'immunité des propriétés analogues à celles des toxines microbiennes. Depuis, l'école de Dorpat, M. Kobert et ses élèves, ont complété l'étude de ces toxines à ce point de vue. En France, des travaux intéressants sur cette question sont sortis de l'Institut Pasteur : Calmette et Delarde.

I. *Immunité naturelle*

Au cours de recherches sur les toxines non microbiennes, MM. Calmette et Delarde ont montré que le hérisson, la poule, la tortue, la couleuvre et la grenouille avaient une immunité relative à l'abrine. Les doses sûrement mortelles pour ces animaux ont été de:

10 milligr. pour la poule ou le hérisson.
30 milligr. pour la tortue.
5 milligr. pour la couleuvre.
1 milligr. pour la grenouille.

Cette immunité ne serait pas cependant toujours aussi marquée. Nous avions commencé à immuniser une poule (n° 1) contre l'abrine. Notre première injection le 27 novem-

bre était de 1/5 de milligr. pour arriver à 4/5 le 31 décembre. La dose totale d'abrine injectée était à cette date de 3 mg. 3. Malgré ce notre poule présenta de l'amaigrissement, de la fonte musculaire, de la cachexie, qui se prolongèrent deux mois pour arriver à la mort.

II. *Immunité acquise*

1° *Par voie gastrique.* C'est le procédé qu'a employé Ehrlich dans ses recherches en 1891. Il faisait ingérer quotidiennement à des souris avec leur nourriture des doses croissantes par voie buccale, l'immunité dans ces conditions se produit brusquement au 6e jour. Pour arriver au plus haut degré d'immunité il est indispensable d'employer des doses de plus en plus fortes. Les animaux ainsi immunisés conservent très longtemps leur immunité.

2° *Par voie hypodermique.* — Stépanoff a immunisé des lapins « en leur introduisant dans la peau des doses graduellement croissantes de ricine commençant par 0 mg. 05 répétées tous les jours pendant quelque temps ». Il passe ensuite aux doses plus fortes les augmentant successivement de 0 mg. 05 chaque fois. « Au commencement de ce traitement après chaque injection, le lapin manifeste une perte de poids qui dure 3 à 5 jours; quand il a repris son niveau on peut renforcer les doses en les augmentant de 0 mg. 01, puis 0 mg. 02 et davantage. » Les lapins ainsi immunisés arrivent au bout de plusieurs mois à supporter l'introduction dans le sang de 1 mil. 5 et 2 millig. de ricine en solution, sans en souffrir.

Calmette opérant également par la voie hypodermique est arrivé avec des cobayes et des lapins à faire tolérer à ces animaux au bout de six mois des doses de 10 milligr. Au bout de 2 ans il avait des animaux supportant très facilement

100 milligr. en une seule injection, ce qui, pour un lapin, correspond à une dose 1.000 fois mortelle.

Nous même avons réussi en nous servant des solutions d'abrine ou de ricine Merck à 1/1000 dans une solution de NaCl à 10 p. 100 à immuniser des cobayes.

Nous avons commencé dans ces expériences d'immunisation par des doses très minimes 1/1000e de millig. pour quelques animaux, par des doses plus fortes pour d'autres 1/100e de millig. Nous augmentions progressivement, comme Stepanoff, les doses injectées en nous guidant sur le poids de l'animal. Nous avons en ce moment les cobayes suivants immunisés:

Contre l'abrine :

N° 9. — Progression par millième de milligr., immunisation commencée le 10 novembre 1909, supporte à l'heure actuelle 2 milligr.

N° 16. — Progression par millième de milligr., immunisation commencée le 8 décembre 1909, supporte à l'heure actuelle 3 milligr.

N° 25. — Progression par centième de milligr., immunisation commencée le 13 janvier 1910, supporte à l'heure actuelle 4 milligr.

Contre la ricine :

N° 15. — Progression par millième de milligr., immunisation commencée le 8 décembre 1909, supporte à l'heure actuelle 2 milligr.

N° 23. — Progression par millième de milligr., immunisation commencée le 27 décembre 1909, supporte à l'heure actuelle 2 milligr.

N° 27. — Progression par cinquantième de milligr., immunisation commencée le 13 janvier 1910, supporte à l'heure actuelle 3 milligr.

N° 28. — Progression par centième de milligr., immunisation commencée le 13 janvier 1910, supporte à l'heure actuelle 3 milligr.

Les animaux naturellement réfractaires peuvent également acquérir une immunité plus élevée par la méthode des injections.

Calmette a immunisé des poules contre l'abrine, et nous même possédons une poule qui reçut le 17 décembre 1909 une première injection d'1/20e de milligr. de ricine, et qui supporte actuellement sans inconvénient une dose de 5 milligr.

Avec les tortues l'immunisation est difficile, car l'abrine reste accumulée dans leur organisme, et au bout de quelques semaines elles meurent intoxiquées, en leur injectant tous les deux jours seulement deux milligr. d'abrine; il en faut 30 milligr. d'ordinaire pour amener leur mort en 48 heures.

Les grenouilles, naturellement peu sensibles à l'abrine, recevant des injections suffisamment espacées peuvent acquérir l'immunité contre des doses mortelles pour les animaux témoins.

On peut également utiliser pour cette action immunisante des toxines atténuées: solutions dont le pouvoir toxique a été diminué par un des agents modificateurs dont nous avons parlé, la lumière, le vieillissement, l'acidification, etc.

3° *Par voie conjonctivale.* — Il était logique d'admettre vu les phénomènes de conjonctivite intense déterminée par le jéquirity qu'une immunité de l'animal à l'abrine pouvait s'acquérir par cette voie, d'autant plus que les recherches de Répin ont montré que l'abrine s'absorbe peu par les muqueuses.

Cette immunité par voie conjonctivale a été obtenue par Rehns après Römer.

La ricine et l'abrine donnent des observations absolument analogues.

En commençant par instiller de très petites doses dans l'œil d'un animal, cet œil s'accoutume à l'abrine. Lorsque longtemps après l'autre œil devient insensible c'est que le sérum de l'animal contient de l'antitoxine, c'est-à-dire qu'il est immunisé.

Au cours de cette immunisation ophtalmogène l'humeur acqueuse de l'organe immunigène reste absolument dépourvue de substances antiabriques. Il en est, d'ailleurs, de même dans l'immunisation par les autres voies. Quand, au bout de 3 mois, le sang ne renferme plus aucune substance immunisante, l'œil non traité redevient sensible à l'abrine, mais l'œil immunisé résiste encore à de fortes doses.

III. Immunité artificielle passive non spécifique.

L'existence de l'immunité conférée par un sérum antitoxique contre une toxine autre que celle pour laquelle il est préparé a été longtemps contestée. Calmette et Delarde, après Duntschmann, Issaef et Pfeifer affirment en s'appuyant sur l'expérimentation que certains sérums ont des propriétés immunisantes contre d'autres toxines.

En 1895 Calmette constate: 1° que le sérum antivenimeux agit contre l'abrine; 2° que le sérum antiabrique agit contre le venin, si on injecte un mélange de ce sérum et de venin (l'injection préventive n'empêche pas la mort); 3° que le sérum antiabrique agit contre la ricine. 1 milligr. est neutralisé par 1 cc. de sérum.

En 1896 Calmette et Delarde ont effectué avec l'abrine seule 43 expériences sur des cobayes et 17 sur des lapins. Ces animaux divisés en plusieurs séries ont reçu préventivement en injection les substances suivantes :

Eau salée physiologique à 5 0/00.

Bouillon normal fraichement préparé.

Sérum humain normal.

Sérum de bœuf normal.
Sérum de poule normal.
Sérum antivenimeux de cheval.
Sérum antitétanique de cheval.
Sérum antidiphtérique de cheval.
Sérum anticholérique de cheval.
Sérum antistreptococcique de cheval.
Sérum antipesteux de cheval.
Sérum anticharbonneux de lapin.
Sérum antiabrique de lapin.

Puis 24 heures après, tous les animaux recevaient 4 milligr. d'abrine. Les résultats trop longs à donner en détail montrent que « certains sérums normaux tels que celui de bœuf, ou d'animaux vaccinés par exemple, le sérum antitétanique, le sérum antidiphtérique, le sérum anticharbonneux et le sérum anticholérique surtout possèdent des propriétés nettement préventives à l'égard de l'abrine. »

Si l'intensité de cette action préventive est évidemment moindre qu'avec le sérum spécifique, elle est cependant manifeste et peut donner dans quelques cas l'immunité réelle contre une dose de toxine mortelle.

« On voit donc que l'immunité artificielle passive contre certaines intoxications peut être conférée par des substances qui ne possèdent aucun pouvoir spécifique. »

« Nous pensons que cette immunité doit être envisagée comme résultant d'un état de stimulation particulier des cellules qui permet à celles-ci de résister de façon durable ou temporaire à certains poisons.

IV. Transmission de l'immunité par les parents à leur progéniture

Cette question si importante à résoudre pour augmenter nos connaissances sur la transmission des caractères acquis se pose pour l'abrine et la ricine. La commodité de l'étude de ces toxines a fait naître d'assez nombreuses recherches expérimentales dans ce but.

Ehrlich, en 1891, opérant avec des rats immunisés contre l'abrine et la ricine avait constaté que l'immunité peut se transmettre aux petits qui naissent et se conservent immunisés.

D'après Hertwig cette immunité serait due à de certaines modifications spécifiques qui, portant sur toutes les cellules de tous les tissus, atteignent également les cellules sexuelles, et par elles se transmettent aux petits.

Weismann admet que les substances immunisantes passent de la mère au fœtus par voie placentaire. Il appuie son hypothèse sur ce fait, qu'il n'est pas démontré que le père soit capable de transmettre à ses petits l'immunité qu'il a acquise.

Lustig, en 1904, a expérimenté de nouveau dans le même but. Ses expériences confirment la théorie de Weismann et infirment celles d'Ehrlich. Il immunisa à l'abrine et à la ricine des coqs et des poules, puis il rechercha les substances immunisantes dans les œufs, en injectant des extraits de l'albumine et du jaune en même temps que la toxine à des animaux. Dans ces conditions la marche de l'intoxication fut la même.

Puis il fit couver des œufs. Comme tous les expérimentateurs il eut de nombreux poussins tératologiques qui ne survécurent pas. Quant aux poulets non monstrueux, qui eux survécurent, aucun n'était immunisé. Tous moururent dans

le même temps que les animaux neufs de même poids, race, provenance injectés avec les mêmes doses mortelles.

Il semble donc bien démontré par toutes ces expériences que l'immunité se transmet de la mère au petit, chez les vivipares, la transmission des substances immunisantes se faisant par la voie placentaire (théorie de Weismann et Lustig) et que l'immunité ne se transmet pas chez les ovipares contrairement à l'hypothèse d'Hertwig.

CHAPITRE VI

Immunité (suite). — Sérums antitoxiques. — Sérum des animaux naturellement réfractaires. — Sérum des animaux immunisés. — Diagnostic de la toxine par le sérum. — Agents modificateurs des sérums. — Anaphylaxie.

I° *Le sérum des animaux naturellement réfractaires à l'abrine et à la ricine contient-il une substance antitoxique?*

Les expériences de Calmette et Delarde ont montré que le sérum des hérissons avait des propriétés manifestement antitoxiques à l'égard de l'abrine, tandis que le sérum de poule ou de tortue (bien que ces animaux soient réfractaires à l'intoxication par ces mêmes toxines) est totalement inactif *in vitro*, et *in vivo* contre ce poison.

En effet, deux lapins de 1.520 et 1.770 gr., qui reçoivent sous la peau respectivement 3 cc. et 2 cc. de sérum de hérisson, puis 24 heures après, un milligr. d'abrine, dose mortelle pour les témoins ont survécu, le second seulement 7 jours.

Deux autres lapins de 1.880 et 1.900 gr., reçoivent sous la peau respectivement un mélange de 1 cc ou 1/2 cc de sérum de hérisson avec 1 milligr. d'abrine. Ils survivent l'un 5 jours l'autre 48 heures.

Les mêmes expériences faites avec du sérum de poule ou de tortue ont toujours amené en 48 heures la mort du lapin.

Seul « le sérum de hérisson a donc des propriétés mani-

festement antitoxiques à l'égard de l'abrine, mais la quantité de sérum nécessaire pour empêcher les effets d'une dose mortelle en 48 heures est relativement considérable puisqu'il en faut au moins 3 cc. »

On peut donc affirmer avec Calmette, « que l'état d'immunité naturelle à l'égard des toxines n'implique nullement l'existence dans le sang des animaux réfractaires de substances antitoxiques spécifiques, et que ces substances lorsqu'elles existent ne sont jamais assez actives pour expliquer l'immunité relativement solide dont jouissent ces animaux. »

II. *Les animaux réfractaires peuvent-ils produire des antitoxines ?*

Dans les expériences de Calmette et Delarde, le sérum d'une poule, qui avait reçu 8 milligr. d'abrine en 12 jours et qui fut saignée 3 semaines après, injecté préventivement à la dose de 5 cc. 24 heures avant l'injection d'un milligr. d'abrine fut nettement préventif. Le lapin survécut après avoir maigri pendant quelques jours. Il en fut de même d'un lapin qui avait reçu en injection un mélange de 2 cc. de ce sérum pour un milligr. d'abrine.

Nous avons vu qu'il était difficile d'immuniser les tortues. Le sérum de 2 d'entre elles, qui avaient reçu en totalité l'une 20 milligr., l'autre 14, recueilli 25 jours après la dernière injection se montra toxique pour les souris et les lapins.

Il en est de même pour les grenouilles, que l'on arrive à immuniser pour des doses mortelles pour les témoins, mais dont le sang est toujours toxique.

Donc « seuls les animaux à sang chaud naturellement réfractaires sont capables de former des antitoxines sous l'influence d'injections répétées d'abrine, mais les animaux à sang froid réfractaires n'en produisent pas dans les conditions normales de leur existence. »

III. *Les animaux immunisés artificiellement donnent des sérums antitoxiques.*

1° *Sérum antiabrique.* — Calmette, qui, nous l'avons vu, est arrivé à rendre des lapins et des cobayes insensibles à 100 milligr. d'abrine, a montré qu'un centimètre-cube de ce sérum injecté à un lapin neuf suffit pour l'immuniser contre deux milligr. d'abrine injectée sous la peau 24 heures après. *In vitro* un milligr. d'abrine se trouve neutralisé par 1 cc. de sérum.

Cette action antitoxique du sérum antiabrique est également très marquée localement sur les muqueuses et en particulier sur la conjonctive. L'instillation dans l'œil d'un lapin de quelques gouttes de sérum antiabrique, que l'on laisse en contact quelques minutes, empêche le développement de l'ophtalmie jéquiritique que produit chez un animal témoin la même dose de deux gouttes d'une solution d'abrine de 1 p. 100.

Si le sérum antiabrique est instillé dans l'œil, six heures après les deux gouttes de solution d'abrine, on ne constate aucune inflammation de la conjonctive.

Si 24 heures après, alors que l'œil est en pleine ophtalmie, on décolle les paupières pour instiller le sérum antiabrique, on voit le lendemain l'animal avoir l'œil ouvert, la conjonctive légèrement rouge, sans suppuration. 48 heures après l'œil est normal.

Si le traitement par le sérum n'a lieu que 48 heures après l'instillation, on voit les animaux ouvrir rapidement l'œil malade et l'ophtalmie guérir trois jours plus tôt que chez les animaux témoins.

Il y a là des faits intéressants qui ont motivé l'emploi du sérum antiabrique comme correctif dans le traitement du trachome par le Jéquirity. Deux préparations ont même été lancées dans le commerce pour faciliter aux spécialistes ce traitement: *Jéquiritol*, *Jéquiritol-serum*,

Cette action du sérum antiabrique sur la muqueuse est bien spécifique; c'est en quelque sorte une insensibilisation des cellules de conjonctive, soit à la manière d'un anesthésique local, soit par imprégnation des cellules, de façon à réaliser dans leur intérieur les conditions des mélanges *in vitro*. En effet, l'hypochlorite de chaux qui détruit très bien l'abrine, instillée dans l'œil au lieu de sérum antiabrique, n'empêche pas l'ophtalmie Jéquiritique.

2° *Sérum antiricinique.* — Le sérum des animaux immunisés contre la ricine a une action nettement immunisante quand on l'injecte à d'autres animaux. Sur les souris de 10 à 15 gr. Stepanoff a constaté que 1 cc. de sérum de ses lapins immunisés neutralise 0 mg. 30 de ricine.

Si ce sérum est introduit dans la veine d'un lapin et qu'on examine 24 heures après le sang défibriné de ce lapin, on constate que ce sang possède des propriétés immunisantes évidentes puisque 1 cc neutralise 0 mg.04 de ricine. Les souris qui recevaient 0 mg. 04 de ricine et 1 cc. de ce sang dès après l'injection survivent après avoir eu un peu de diarrhée. Si la dose de sang immunisant est moindre : 1/2 cc, 1/4 cc. les souris survivent 7 jours ou 2 jours, au lieu que normalement 0 mg. 04 les tue en quelques heures.

Cette antiricine, ce pouvoir immunisant provoqué chez les animaux par l'injection de sérum immunisant, va s'atténuant à partir du troisième jour, pour disparaître complètement au septième jour, comme l'a montré Stepanoff.

Où passe cette antiricine? Stepanoff ne l'a retrouvée ni dans le sang, ni dans aucun organe, ni dans aucun produit d'excrétion. « On peut supposer qu'elle ne s'élimine pas de l'organisme *per se*, mais disparait du sang peu à peu soumise à des modifications inconnues. »

Comme le sérum antiabrique, le sérum antiricinique donne un précipité avec la solution de sa toxine.

IV. *Les sérums antitoxiques ne peuvent-ils pas servir au diagnostic des toxines?*

De même que pour les affections microbiennes, les propriétés agglutinantes, microbicides, spécifiques des sérums des animaux vaccinés permettent journellement le diagnostic précis des microbes pathogènes (séro-diagnostic), de même Calmette a pu déterminer la nature exacte du poison de certaines baguettes dont les Indiens se servent pour empoisonner les animaux domestiques de leurs ennemis.

Ces baguettes, que les Indiens introduisent à la faveur d'une petite plaie sous la peau des animaux sont formées d'une pâte qui se gonfle et se désagrège lentement dans l'eau. « Nous avons dissous, écrit Calmette, 50 centigr. de cette pâte dans six centi-cubes d'eau. 1/2 cc. de cette solution tue en 48 heures un lapin de 2 kilos et on retrouve à l'autopsie de l'animal toutes les lésions caractéristiques de l'empoisonnement par l'abrine. »

« La même quantité de solution mélangée à 2 cc. de sérum d'un de nos lapins vaccinés contre l'abrine n'a produit aucun effet, » de même que 1 cc. inoculé à des animaux vaccinés.

« Par suite il y a lieu d'affirmer que le principe actif de ces baguettes est bien identique à celui des graines du Jequirity.»

Il est facile d'entrevoir les conséquences et la portée, que peut avoir, en médecine légale notamment, ce procédé d'analyse physiologique des toxines soit végétales, soit même microbiennes ou animales.

(Calmette a également déterminé par ce procédé la nature du poison qui imbibait des linges trouvés dans le rectum des vaches mortes. C'était du venin de serpent, dont les Indiens s'étaient servis dans un but de vengeance).

Dans un autre ordre d'idées, nous nous sommes demandés également, si ces sérums antitoxiques ne pourraient pas

servir à faire le diagnostic de l'intoxication par l'abrine et la ricine, par la *méthode de déviation du complément.*

On connait le principe de la méthode de Bordet et Gengou, dont d'assez nombreuses applications au diagnostic des affections microbiennes ont été indiquées ces dernières années. Il serait trop long de refaire ici l'exposé de cette méthode, qui a, d'ailleurs, aujourd'hui sa place acquise dans tous les laboratoires de recherches cliniques et scientifiques.

Dans sa thèse de doctorat ès-sciences, Pozerski en 1906, a pu arriver après de très longs tâtonnements, à pratiquer la méthode de déviation du complément avec le sérum d'animaux préparés contre la papaïne, ferment d'un pouvoir remarquable, qui se rapproche par plus d'une propriété de nos toxines végétales.

Après nous être heurté aux difficultés de préparation d'un sérum hémolysant les globules de mouton ou de bœuf, difficultés inhérentes à la préparation des animaux (lapins) dont un grand nombre meurent à la deuxième ou troisième injection de sang défibriné et lavé, nous sommes arrivé à préparer du sérum cobaye-antilapin, plus facilement. Nous avions, comme nous le disions précédemment, des cobayes immunisés contre nos toxines. Chez tous ces cobayes nous recueillons le sang par ponction aseptique du cœur — procédé décrit par Raybaud, à la réunion biologique de Marseille, d'une application facile et sûre. — Comme antigène, nous nous servions de solutions d'abrine ou de ricine à 1/000, dans une solution de NaCl à 10 %. Nous avons toujours été gêné dans nos expériences par l'intense pouvoir coagulant et antihémolytique de ces solutions de toxines végétales, dont nous n'avons pu nous débarrasser, sans diminuer la quantité d'antigène au-dessous des doses nécessaires, ou sans leur enlever en même temps tout leur pouvoir toxique.

Il eut été très intéressant de constater avec ces toxines

végétales, les mêmes réactions d'immunité que l'on observe avec les toxines microbiennes, et que Pozersky a constaté avec la papaïne. La portée des déductions pratiques que l'on aurait pu en faire découler est très grande. Appliquée, peut-être, à tous les poisons, cette méthode viendrait apporter une aide puissante au diagnostic médico-légal des intoxications.

V. Action de certains agents modificateurs sur les sérums antitoxiques.

Chaleur. — Le sérum antiabrique perd ses propriétés préventives par le chauffage à partir de 58°.

Chlorure d'or. Iode. — En injectant à des lapins un mélange de sérum antiabrique et d'une solution de chlorure d'or à 1/100, ou d'une solution de Gram, puis une demi-heure après une dose d'abrine mortelle, les lapins ne présentent aucune malaise.

Ces faits montrent donc que les antitoxines du sérum des animaux vaccinés contre l'abrine ne sont pas modifiées par les agents chimiques, qui, aux mêmes doses, détruisent l'abrine, tandis que la chaleur, qui ne lui enlève son pouvoir toxique qu'à 65°, détruit l'antitoxine à 58°.

VI. Anaphylaxie

Tout récemment (janvier 1910), Richet a signalé des phénomènes d'anaphylaxie par la crépitine. Ce fait est d'autant plus intéressant qu'avec les autres toxalbumines — abrine, ricine du moins — on n'observe aucun phénomène de ce genre. Nous avons soigneusement observé tous nos animaux en expérience et n'avons jamais constaté le moindre symptôme qui puisse faire penser à un phénomène d'anaphylaxie, même en nous mettant dans les conditions exactes l'expérimentation de Richet.

CHAPITRE VIII

Action des toxines in vitro sur le sang. — Pouvoir agglutinant. — Pouvoir antihémolytique. — Conditions qui diminuent ce double pouvoir.

L'abrine et la ricine agissant *in vitro* sur le sang produisent, comme l'a démontré Stillmark, une agglutination des hématies. Ce phénomène, facile à reproduire et à constater, a été soigneusement observé et décrit par G. Cruz, en faisant passer dans une préparation microscopique de sang frais une solution de ricine (ou d'abrine).

« L'action de la ricine sur les globules rouges, se traduit par la gélification de leur surface qui au lieu d'être glissante, comme à l'état normal, devient collante, agglutinante, ce qui fait qu'ils s'accolent entre eux et se fusionnent en formant de grandes masses rougeâtres. Cette agglutination, cependant, ne se fait pas d'une manière assez intense pour que les érythrocytes soient retenus par les autres, au milieu d'un courant d'une certaine vélocité, comme cela se produit quand on fait passer entre la lame et la lamelle une solution de ricine. L'agglutination se fait seulement dans les bords du courant, ou dans les endroits où celui-ci a presque entièrement cessé.»

Cette action d'agglutination des hématies se produit dans tous les cas, que l'on opère sur du sang entier, sur du sang défibriné, ou même simplement sur des globules rouges lavés plusieurs fois par centrifugation dans l'eau physiologique.

Cette action se retrouve avec le sang des animaux à sang chaud comme avec celui des animaux à sang-froid. Elle se produit même avec des doses minimes de toxine. Cruz agglutine 5 cc de sang défibriné avec 0 mg. 125 de ricine en solution. Il n'obtient plus le phénomène avec 0 mg. 062.

In vivo, G. Cruz a vérifié que cette action agglutinante ne s'observe pas dans le sang circulant d'un animal vivant, même en employant de fortes doses de ricine. L'expérience est facile à réaliser en disposant une grenouille comme pour l'étude de la circulation.

Cette action agglutinante *in vitro* s'observe aussi très facilement macroscopiquement, en mettant en présence, dans un tube à essai, des globules rouges, en suspension dans l'eau physiologique, avec une solution d'abrine ou de ricine au 1/1000e.

J. Rehns, au cours d'une série d'expériences, a utilisé une solution de sang de lapin défibriné à 5 % dans l'eau physiologique. 1 cc. de ce sang était puissamment agglutiné en quelques minutes par un 1/10e de cc de solution de toxalbumine à 1/1000e. Nous-même au cours de nos expériences avons constaté qu'il suffisait de deux gouttes, d'un compte-gouttes normal, soit 1/10e de cc de solution au 1/1000e de ces mêmes toxines pour produire l'agglutination. Avec l'abrine, dans quelques cas, une goutte nous a suffi pour agglutiner le sang.

On a songé à mesurer ce pouvoir agglutinant des toxalbumines. Rehns a cherché la proportion nécessaire pour agglutiner 1 cc de solution de globules rouges à 5 % dans l'eau salée physiologique, en deux heures, à la température du laboratoire; il est arrivé aux chiffres suivants : 1/5000e pour le sang de lapin, 1/500e pour le sang de bœuf. Le sang de chien serait encore plus réfractaire.

Les globules rouges, ainsi agglutinés, fixent les toxal-

bumines, qu'on ne retrouve plus dans le liquide surnageant. L'expérience suivante de Rehns très facile à reproduire, le démontre nettement.

Il met dans 20 cc de solution de ricine à 1/1000e les globules rouges, débarrassées du sérum, de 10 cc de sang de cheval .Le mélange est laissé une heure à l'étuve, et quatre heures à la température du laboratoire. Le liquide qui surnage est dépourvu de tout pouvoir toxique, il ne précipite plus le sérum antiricinique, il n'agglutine plus les globules rouges. En un mot, il ne contient plus de ricine, la toxalbumine a été entièrement fixée par les globules rouges de bœuf.

Si maintenant on lave ces globules rouges, par agitation dans l'eau physiologique et centrifugation, le liquide de lavage devient toxique et tue les animaux avec les lésions caractéristiques.

« On peut ainsi, au moyen de globules rouges quelconques, employés en quantités suffisantes, et en prolongeant suffisamment leur contact, rendre inertes les plus fortes doses de ricine.»

Si les globules rouges sont déjà agglutinés par une dose forte de toxine, mis en présence d'une nouvelle dose de toxine, ils ne la fixent plus et la solution reste toxique.

Ce pouvoir agglutinant se double d'un pouvoir antihémolytique, ainsi que nous l'avons constaté par l'expérience suivante : Nous mettons dans des tubes à essai un cc d'eau distillée, à laquelle nous ajoutons une, deux, trois, quatre, cinq gouttes d'abrine ou de ricine à 1/1000e. Dans tous ces tubes, nous laissons tomber une goutte de sang frais de cobaye. L'hydro-hémolyse ne se produit que dans un seul tube, celui qui ne renferme qu'une goutte de solution d'abrine au 1/1000e et de deux gouttes de solution de ricine au 1/1000e pour empêcher l'hydro-hémolyse.

La goutte correspondant au 1/20e de cc, et le centimètre-cube à 0,001 milligr., on voit par là qu'il suffit d'1/20e de milligr. d'abrine et d'1/10e de millig. de ricine, pour empêcher l'hydro-hémolyse. Ces deux toixnes ont donc nettement une action anti-hémolytique.

Les mêmes phénomènes d'antihémolyse se produisent, lorsqu'on cherche à produire l'hémolyse en milieu isotonique par un sérum hémolysant préparé, comme nous l'avons constaté avec du sérum cobaye-antilapin.

Conditions qui diminuent ce pouvoir agglutinant et antihémolytique

Il était intéressant de se demander, si les conditions, qui atténuent ou font disparaître le pouvoir toxique des toxalbumines, avaient une action sur le pouvoir agglutinant et anti-hémolytique.

Chaleur. — Dans ce but nous avons procédé aux expériences suivantes :

1° Avec des solutions d'abrine et de ricine *chauffées* pendant une heure à l'étuve *à 55°*. On se rappelle que dans ces conditions les solutions conservent leur pouvoir toxique.

2° Avec des solutions d'abrine et de ricine *portées à l'ébullition*. On sait qu'à partir de 65° le pouvoir toxique de l'abrine et de la ricine disparaît comme le montre nettement l'injection à des cobayes de 2 cc des solutions, qui correspondent à deux milligrammes de toxines, doses quarante fois supérieures à la dose mortelle. Les cobayes ne ressentent aucun malaise.

Nous avons mis, dans une série de tubes à essai, 1 cc d'eau distillée, et une certaine quantité de solutions toxiques au 1/1000e, au moyen d'un compte-gouttes normal (une goutte correspondant à 1/20e de cc), puis nous avons fait tomber

une goutte de sang frais de cobaye. Le résultat de ces expériences est consigné dans le tableau ci-dessous :

	SOL. NON CHAUFFÉE	SOL. CHAUFFÉE à 55°	SOL. CHAUFFÉE à 100°
Eau distillée 1cc + ricine 1 goutte + sang 1 goutte..	hemolyse	hemolyse	hemolyse
Eau distillée 1cc + ricine 2 gouttes + sang 1 goutte	pas hemol.	hemol. incompl.	hemol. incompl.
Eau distillée 1cc + ricine 3 gouttes + sang 1 goutte.. etc.	pas hemol.	pas hemol.	pas hemol.
Eau distillée 1cc + abrine 1 goutte + sang 1 goutte..	pas hemol.	hemolyse	hemolyse
Eau distillée 1cc + abrine 2 gouttes + sang 1 goutte.	—	pas hemol.	pas hemol.
Eau distillée 1cc + abrine 3 gouttes + sang 1 goutte.. etc.	—	—	—

On le voit donc le chauffage à 55° atténue légèrement le pouvoir coagulant et anti-hémolytique *in vitro* des toxalbumines.

A 100° alors que les solutions ne sont plus toxiques, l'action anti-hémolytique et coagulante subit une modification analogue, mais est encore très nette à des doses minimes.

Acides. — Comme nous l'avons déjà dit, au sujet des propriétés chimiques des toxalbumines, une faible dose d'acide minéral ou organique ajoutée aux solutions, sans que celles-ci deviennent acides au tournesol, ne modifie pas leur pouvoir toxique. Il n'en est pas de même du pouvoir agglutinant, qui disparaît en ajoutant de faibles doses d'acide.

Voici d'ailleurs comment J. Rehns a procédé pour mettre en évidence cette disparition du pouvoir agglutinant. Il se sert, comme toujours, du sang de lapin frais, défibriné, étendu à 5 0/0 dans l'eau salée physiologique, et de solutions de toxalbumines, abrine, ricine à 1/1000, dans une solution de NaCl à 10 0/0. Nous savons qu'1/10 de cc. de ces solutions mis en contact avec 1 cc. de ce sang l'agglutine puissamment en quelques minutes. Ajoutons maintenant une certaine quantité de solution déci-normale d'acide sulfurique (0 cc. 3 pour la ricine, 2 cc. 25 pour l'abrine) l'agglutination se défait, les globules flottent librement dans le liquide.

Poursuivant l'étude de ce prénomène Rehns a montré qu'en ajoutant à un tel mélange de sang, de toxalbumine et d'acide, une quantité convenable de solution déci-normale de soude pour neutraliser l'acide, l'agglutination se rétablit. En ajoutant à nouveau l'acide on défait à nouveau l'agglutination. Rehns a reproduit ainsi, 10 fois de suite, ce même phénomène d'agglutination et de désagglutination.

Si l'acide est ajouté dans la solution toxique avant de la mettre en présence du sang, l'agglutination ne se produit pas. Mais si l'on ajoute alors la solution de soude, elle a lieu tout comme dans le cas précédent.

Ces globules rouges ainsi mis en solution acide fixent les toxines, comme en simple suspension dans l'eau physiologique. Lavés et injectés, ils donnent la mort.

Les acides ont également une action très nette sur le pouvoir antihémolytique, qu'ils détruisent complètement. Pour le montrer nous avons procédé aux expériences suivantes:

Notre dispositif est analogue à celui employé avec les toxines chauffées. Dans une série de tubes à essai nous mettons 1 cc. d'eau distillée, puis 2 gouttes de ricine, et respectivement 1, 2, 3, 4, 5 gouttes de solution déci-normale d'acide

sulfurique. Une série parallèle de tubes est installée pour l'abrine. Dans tous ces tubes nous laissons tomber une goutte de sang de cobaye. Dans tous, très rapidement — 3 à 4 minutes — l'hémolyse est complète. Mais la teinte du liquide, au lieu d'être couleur « bordeaux », comme dans l'hydro-hémolyse habituelle, est ici couleur « madère ».

Dans une deuxième série d'expériences, les gouttes d'acide étaient ajoutées alors que le sang et les toxines étaient déjà en présence, et que l'agglutination s'était faite. Comme dans la première série l'hémolyse était complète dans tous les tubes 3 à 4 minutes après.

Le pouvoir antihémolytique est donc, comme le pouvoir agglutinant, détruit par les acides.

Lécithine. — O. Pascucci, en 1905, a montré que la ricine qui agglutine les globules rouges devient hémolytique, en présence de la lécithine. Il n'y aurait là qu'un fait très plausible, car on sait que la lécithine possède à un très haut degré la propriété de se combiner avec de nombreuses substances organiques, et en particulier avec des toxines, telles que le venin de cobra, le venin d'abeille. Il se pourrait donc, qu'en se combinant avec l'abrine et la ricine, si voisines des venins et des toxines microbiennes, la lécithine modifie et fasse disparaître l'action agglutinante des toxalbumines Reprenant les expériences de O. Pascucci pour la ricine, nous avons cherché à déterminer l'action de la lécithine sur l'abrine et sur la ricine.

Nous avons, au préalable, déterminé l'action de la lécithine sur le sang *in vitro*. La lécithine que nous avons employée est la lécithine pure de Poulenc en solution préparée de la façon suivante:

Dissoudre 0 gr. 3 de lécithine dans 50 cc. d'alcool absolu, ajouter 50 cc. de solution salée physiologique, agiter fortement et filtrer. Le filtrat doit être limpide.

Voici comment nous disposons notre expérience: Dans une série de tubes à essai nous mettons un cc. d'eau physiologique, puis des quantités croissantes de solution de lécithine, puis nous laissons tomber une goutte de sang de cobaye.

Sang. — I goutte.
1 Lécithine. — I goutte.
Eau physiologique. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
2 Lécithine. — II gouttes.
Eau physiologique. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
3 Lécithine. — III gouttes.
Eau physiologique. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
4 Lécithine. — IV gouttes.
Eau physiologique. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
5 Lécithine. — V gouttes.
Eau physiologique. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
6 Lécithine. — VI gouttes.
Eau physiologique. — 1 cc.
et ainsi de suite.

Au bout d'une heure, à la température du laboratoire, il n'y a pas hémolyse dans les tubes 1-2-3-4. Par contre, dans les tubes 5-6 et suivants, il y a hémolyse, et hémolyse totale.

Ainsi donc, en ajoutant à une solution de sang formée d'I goutte dans un cc. d'eau physiologique à 9 0/00, V gouttes d'une telle solution de lécithine, on a une hémolyse complète. La lécithine exerce donc, par elle-même, une action hémolytique très nette *in vitro*.

Nous avons montré précédemment que deux gouttes de la solution de ricine à 1/1000, et une goutte seulement de la solution d'abrine à 1/1000 suffisent à produire l'agglutination du sang et à empêcher l'hydrohémolyse. En présence de lécithine, il faut encore, pour obtenir une hémolyse totale, ajouter cinq gouttes de la solution de lécithine.

Le dispositif de l'expérience est analogue au précédent:

Sang. — I goutte.
1 Ricine. — II gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
2 Ricine. — II gouttes.
Lécithine. — I goutte.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
3 Ricine. — II gouttes.
Lécithine. — II gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
4 Ricine. — II gouttes.
Lécithine. — III gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
5 Ricine. — II gouttes.
Lécithine. — IV gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
6 Ricine. — II gouttes.
Lécithine. — V gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

et ainsi de suite.

Nous n'avons pas hémolyse dans les tubes 1, 2, 3, 4, 5. Dans les tubes 6 et suivants, c. a. d. à partir de 5 gouttes de lécithien, il y a hémolyse. La présence de ricine n'influence donc pas l'action hémolytique propre de la lécithine.

Cette expérience réalisée avec l'abrine donne les mêmes résultats.

Si, dans une nouvelle série de tubes, exactement calquée sur la précédente, nous remplaçons l'eau distillée par de l'eau physiologique, il n'y aura encore pas d'hémolyse dans les tubes 1, 2, 3, 4, 5, et hémolyse à partir du tube 6, contenant au moins 5 gouttes de lécithine.

Ainsi dont, on peut conclure d'après toutes ces expériences que la lécithine possède par elle-même un pouvoir hémolytique, et, qu'en présence de la dose de lécithine nécessaire pour que ce pouvoir se manifeste, l'action antihémolytique des toxines végétales est abolie. Il semble, que les deux pouvoirs en présence : l'un hémolytique, l'autre antihémolytique, celui de la lécithine prime celui des toxines. L'hémolyse qui se produit en présence de la ricine serait donc contrairement aux conclusions de O. Pascucci, due à la lécithine et non à la ricine rendue hémolytique par cette dernière.

Substances fluorescentes. — Etudiant l'action des substances fluorescentes sur les ferments et les toxines H. V. Tappeiner a montré en 1903 que la ricine exposée à l'influence de l'éosine perd une grande partie de son pouvoir agglutinant, si la solution est exposée pendant 14 heures à la lumière du jour; tandis qu'une simple solution de ricine et une solution mixte de ricine et d'éosine, conservées toutes deux dans l'obscurité pendant un temps égal, ont gardé tout leur pouvoir agglutinant.

Un certain nombre d'autres substances fluorescentes agissent de même, bien que d'une façon moins intense.

Nous avons cherché l'influence de ces substances fluores-

centes sur l'action antihémolytique des toxines végétales, par les expériences suivantes: Nous avons préparé les tubes à essai suivants:

Sang. — I goutte.
1 Ricine. — II gouttes.
Eosine. — I goutte.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
2 Ricine. — II gouttes.
Eosine. — II gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
3 Ricine. — II gouttes.
Eosine. — III gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
4 Ricine. — II gouttes.
Eosine. — IV gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
5 Ricine. — II gouttes.
Eosine. — V gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

Sang. — I goutte.
6 Ricine. — II gouttes.
Eosine. — VI gouttes.
Eau distillée. — 1 cc.

et ainsi de suite.

Des séries parallèles de tubes sont préparées, avec l'abrine, d'autres avec la fluoresceine. Les solutions fluorescentes étaient, comme celles des toxines, à 1 p. 1000.

Avec l'eosine, en présence soit d'abrine, soit de ricine, les tubes 1, 2, 3, 4 n'hémolysent pas; à partir du tube 5 il y a hémolyse.

Avec la fluoresceine, l'hémolyse apparait plus tardivement, elle est légère et incomplète pour le tube 9, complète pour le tube 10.

Donc l'éosine et la fluoresceine font perdre à la lumière, aux toxines végétales en même temps que leur pouvoir agglutinant, leur pouvoir antihémolytique, si elles sont en quantité suffisante.

CONCLUSIONS

I. — Les toxalbumines végétales, ricine, abrine, ont des prorpiétés physique, chimiques, biologiques, qui les rapprochent des toxines microbiennes, et plus particulièrement des toxines diphtérique et tétanique, et des venins.

II. — Introduites dans l'organisme, ces toxalbumines sont très toxiques. Elles y déterminent des lésions diffuses. de l'intestin (entérite hémorragique), du cœur (myocardite segmentaire), du foie (congestion et nécrose), du système nerveux. Elles provoquent de l'hyperleucocytose qui fait place, si l'animal doit mourir, à de l'hypoleuoccytose.

III. — Après avoir passé dans le sang l'abrine et la ricine s'éliminent surtout par l'intestin, accessoirement par les reins. Elles paraissent également se fixer sur certaines glandes: la rate et surtout le foie.

IV. — Certains animaux possèdent une immunité naturelle (grenouille, tortue, couleuvre, poule, hérisson). L'immunité acquise par l'administration de doses progressivement croissantes rend l'animal insensible à des doses énormes: 100 milig.

V. — Il existe des sérums normaux (bœuf) et des sérums d'animaux vaccinés contre certaines toxines microbiennes (ténanique, diphtérique, charbonneuse et cholérique), qui

confèrent une immunité artificielle passive, non spécifique, contre l'abrine et la ricine.

VI. — L'immunité contre ces toxalbumines peut se transmettre de la mère aux petits chez les vivipares, par passage de substances immunisantes à travers le placenta.

VIII. — Les sérums antitoxiques (antiabrique, antiricinique) contiennent des substances antitoxiques: antiabrine, antiricine; injectés préventivement ou simultanément avec la toxine, ils confèrent l'immunité.

VIII. — On n'a jamais observé de phénomènes d'anaphylaxie avec ces toxines.

IX. — Ces deux toxalbumines ont sur le sang *in vitro*, une double action coagulante et antihémolytique, qui peut être atténuée ou détruite par certains agents: chaleur, acides, lécithine, substances fluorescentes.

BIBLIOGRAPHIE

Nous n'avons indiqué ici que la bibliographie de l'abrine et de la ricine, bien que nous ayons consulté un assez grand nombre d'autres travaux sur les toxines microbiennes, sur l'immunité. etc. Nous avons même laissé de côté, à part deux ou trois mémoires importants, la bibliographie de l'abrine, agent de thérapeutique oculaire.

BAILLON (H). — Dictionnaire Dechambre.

BÉCHAMP (J.) et DUJARDIN. — De la zymase de Jéquirity. C. R. Acad. des Sciences 1885. T. c. p. 70 et 190.

BERKLEY (H. J.). — Expérimental lesions produced by the action of ricin on the cortical nerve cell of the guinea pig's and rabbit's brain: the effect of acute ricin poisoning. Medical Record, New-York, march. 7, 1896.

The John Hopkins Report (Neurology III). 1889.,

BOIX (Emile) et Joseph NOÉ. — Essai de neutralisation de quelques toxalbumines par l'hyposulfite de soude dans l'organisme animal. C. R. Biologie, 11 janvier 1902. Mémoire in-extenso dans Archives générales de Méd., janvier 1902.

BORDET (Gaspard). — Th. Doctorat, Lyon 1883, n° 169. Le jequirity. Son emploi dans le traitement de la conjonctivite granuleuse.

BRAUN (K.) et E. BEHREND. — Sur le dédoublement fermentatif des graisses, des huiles et des éthers. D. ch. G. t. 36, 1903, p. 1900, 1911.

BRUYLANTS et VENNEMANN. — Le jéquirity et son principe phlogogène. C. R. de l'Acad. de Méd. de Belgique, 1884, n° 1, p. 147.

CALMETTE (A). — Contribution à l'étude des venins, des toxines et des sérums antitoxiques. Ann. de l'Inst. Pasteur 1895, p. 225.

CALMETTE (A.) et A. DELARDE. — Sur les toxines non microbiennes et le mécanisme de l'immunité par les serums antitoxiques. Ann. I. P. 1896, p. 675.

CHARPENTIER. — Injections intra cérébrales de toxines (diphtérique, tétanique, abrine, ricine). Thèse Paris 1899.

CHATENAY (G.). — Les réactions leucocytaires vis-à-vis de certaines toxines végétales et animales. Paris 1894.

CHRISTMAS (de). — Lettre sur la jéquiritine. Ann. I. P. 1897, n° 1.

CORNEVIN. — Procédé de vaccination contre l'empoisonnement par le ricin. Introduction consécutive de graines et de tourteaux de ricin dans la ration des animaux immunisés. C. R. Acad. Sciences 12 avril 1897.

CORNIL. — Semaine médicale 24 et 31 janvier 1884. Les inflammations expérimentales de la peau déterminées par le jéquirity.

CORNIL et BERLIOZ. — Expériences sur l'empoisonnement par les bacilles de jequirity. Arch. de Physiol. 1883 t. II, p. 413.

Sur l'empoisonnement par le jequirity. C. R. de l'Ac. de Sc. 1883, 17 septembre, et 8 octobre.

De l'empoisonnement des poules par le jequirity. Ac. de Méd., 27 janvier 1884.

CRUZ (G). — Etude toxicologique de la ricine. An. d'Hygiène et de Méd. lég. octobre 1898.

Altérations histologiques dans l'empoisonnement par la ricine. Arch. de Méd. exp. XI, p. 238-253, 1899.

CUSNY. — Archiv. für. Exper. Path. und. Pharmakol, Bd 41, p. 439.

DICTIONNAIRE DES SCIENCES NATURELLES. — 1816.

DZIERZOWSKI et SIEBER SCHOUMOFF. — Contribution à l'étude de l'action des ferments digestifs sur l'abrine et de son sort dans le canal gastro-intestinal. Archives des sciences biologiques de Saint-Pétersbourg, VIII, p. 461-482, 1901.

EISLER (M.V.). — L'hémagglutination et l'hémolyse produites par la ricine et l'hémolyse sont-elles dues à l'action d'un acide? Centralblatt für Baktériologie, Parasitenkunde und infecktion krankheiten. (Erste abtheilung), XLVI, p. p. 353-359, 1908.

ERLICH (P). — Experimentelle untersuchungen über Immunität : Ueber Ricin. Deutsche med. Wochensch. 6 août 1891, n° 32. Ueber Abrin. (ibid.) 29 oct. 1891, n° 44.

FLEXNER. — The histological changes produced by ricin and abrin intoxications. New-York, march. 1897.
The pathology of toxalbumin intoxication. John's Hopkins Hospital Reports VI, 1896.

FRŒNKEL (A.). — Ueber die Wirkung des ricins auf Fischblut. Beitrage zur chemischen Physiologie und Pathologie, IV, 224-233, 1897.

GAUTIER (A.). — Les toxines microbiennes et animales, 1896 (ricine et abrine).

HARDY. — Note sur le jequirity (C. R. Soc. de biologie, 1884, p. 135 et 168).

HAUSMANN (W.). — Zur kentniss der abrins ((Beitrage zur chemischen und pathologischen chemie, II, 134-151, 1902.

HELLIN. — Der Giftige Elweisscoerper abrins und seine Wirkung ueber das Blut (Thèse Dorpat 1891).

JACOBY. — Arch. für experimentelle Pathologie med Pharmakologie, 1901 Bd XLVI, p. 28. (Digestion de la ricine par la pepsine) arbeiten aus den Pathologischen institut zu Berlin 1906.
Sur l'immunité contre la ricine. Beitr, chem. Physiol. und. Path. 1901, t. *s*, p. 51-77 et 1902, t. 2, p. 534-544).

JOURNAL DE PHARMACIE. — Lisbonne.— In Journal de pharmacie et de chimie 1892, p. 2.

KOBERT (R.). — Arbeiten der pharmakologischen instituts zu Dorpat, VIII, p. 148, Sttutgart).

KOBERT ET STILLMARK. — Arbeiten des pharmakologischen instituts zu Dorpat 1899, III Band, p. 159.

LAN. — Beitrage zur Kentniss der vegetabilischen Agglutinine. Dissert-Rostock 1900.

LAPERSONNE (de) et PAIMBLAN. — De l'abrine dans les granulations conjonctivales (bulletin de thérapeutique 1900 t. 110), (Gaz. hop. 1900, n° 94, p. 1039).

LESNÉ (Edmond) et Lucien DREYFUS. — De la toxicité de l'abrine chez les animaux chauffés (C. R., soc. de biologie LXIV, 432-433. 14 mars 1908).

LEWIN. — Traité de toxicologie (traduit et annoté par Pouchet, 1908).

LIEBERMANN (L.). — Hœmagglutination caused by ricin, Budapest 1907.

LUSTIG (A.). — Archives Italiennes de biologie, XLI, 271-276, 1904.

MAQUENNE (L.) et L. PHILIPPE. — Recherches sur la ricinine (C. R. de l'Acad .des Sc. C XXXVIII, 506-508, 21 février 1904).

MOURA-BRAZIL. — Traitement de la conjonctivite granuleuse aigue et chronique par l'abrus precatorius jéquirity. (Ann. d'oculist. 1882, p. 101).

MULLER (Frantz). — Beitrage zur toxicologie des ricin (arch. fr. experim. Path. u. Pharmak. XVII, 302-322 1899).

OSBONNE, MENDEL et HARRIS. — Astudy of the proteins of the castor bean, with spécial reference to the isolation of ricin. (Ann. J. Physiol. Bost. 1905, XIV, 259, 286).

PASCUCCI (O.) — Ueber die Wirkung des Ricin auf Lecithin (Beitrage zur chemischen Physiologie und Pathologie, VII, 457, 1905).

PECOLIER. — Etude sur l'empoisonnement par les semences de ricin. (Thèse Montpellier 1869).

RABUTEAU et BOURGOIN. — Traité de Toxicologie.

REHNS (Jules). — Contribution à l'étude de l'immunité acquise contre l'abrine (C. R., Société de biologie, 4, VI, 399-330, 7 février 1904)..

Contribution à l'étude des toxalbumine végétales (ibid. 25 janvier 1902).

Essais sur les toxalbumines végétales (abrine et ricine (ibid. 22 février 1902).

RÉPIN. — Absorption de l'abrine par les muqueuses (ann. de l'Inst. Pasteur, 1895, p. 517).

ROEMER (P.). — Grœfe's arch. für ophtalmologie, Bdt II, Hel t. 1.

ROSSI (G.). — La clinica moderna, décembre 1903.

ROUX (E.). — De l'immunité. Immunité acquise et immunité naturelle ann. I. P. 1891, p. 587).

SALOMON ET DE CHRISTMAS. — Jequirity ophtalmie. Fortschritte der medecin de Friedlander, février 1884.

SALOMON ET DERKINCK. — Ueber pseudo infection bei Frœschen. Beitrag zur Lœsung der jequirity Frage. (Fortsch der Med. 1884).

SATTLER ET DE WECKER. — L'ophtalm. jequiritique, Paris, 1883.

SIEBER (N. O.) et SCHUMOFF-SIMANONSKAJA (E.O.). — De l'action de l'érepsine et du suc intestinal sur les toxines et sur l'abrine. Arch. de la soc. biologie de St-Pétersbourg, t. X, 1903, p. 1 à 11).

SIEBER (N.) et C. SCHUMOFF-SIMONOWSKI. — De l'action de l'érepsine et du suc intestinal sur les toxines et sur l'abrine. (Zeit. phys. ch. 1902).

SOUZO LUNA. — Tratado de Toxicologie, Rio-de-Janeiro 1890.

STASSANO (H). — Sur les combinaisons des nucléines avec les composés métalliques, les alcaloïdes et les toxines. (C. R. Acad. des Sc. 1900).

STÉPANOFF. — Etudes sur la ricine et l'antiricine. (Ann. I. P. 1896. p. 663).

STÉPANOW. — Vratch, 1900, n° 4.

STILLMARK. — Ueber ricin (Stuttgart 1889), (arb. des phar. inst. zu Dorpat 1889).

STRAUSS (M.). — La question du jequirity et l'ophtalmie jequiritique (journ. de Ph. et de Ch., 1886).

TAPPEINER (H.V.). — Ueber die Wirkung fluorescirender substanzen auf fermente and toxine (Berichte der deutschen chemischen gesellschaft 1903, p. 3035-3038), (institut de pharmacologie de Munich).

TAYLOR. — On poisons. London 1875.

VENNEMANN. — Semaine Médicale 1884.

VIBERT. — Traité de Toxicologie.

VITON (A). — La abrina (an. d. cir. med. argent. Buenos-Aires 1906, XXIX, 137, 663).

VOLLERT. — Jequiritol und jequiritolserûm (Therap. Nubeiten Leipz. 1907, II, 151,154).

WARDEN AND WADEL. — Chemist. News 1884. The non bacillar nature of abrin poison (Calcutta 1884). (Analysé in Britisch med. jour. 1885, 18 juillet, p. 105).

Vu et permis d'imprimer :
Montpellier, le 20 avril 1910.
Le Recteur,
Ant. BENOIST.

Vu et approuvé :
Montpellier, le 20 avril 1910.
Le Doyen,
MAIRET.

SERMENT

En présence des Maîtres de cette Ecole, de mes chers condisciples et devant l'effigie d'Hippocrate, je promets et je jure, au nom de l'Être suprême, d'être fidèle aux lois de l'honneur et de la probité dans l'exercice de la Médecine. Je donnerai mes soins gratuits à l'indigent et n'exigerai jamais un salaire au-dessus de mon travail. Admis dans l'intérieur des maisons, mes yeux ne verront pas ce qui s'y passe ; ma langue taira les secrets qui me seront confiés, et mon état ne servira pas à corrompre les mœurs ni à favoriser le crime. Respectueux et reconnaissant envers mes Maîtres, je rendrai à leurs enfants l'instruction que j'ai reçue de leurs pères.

Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses! Que je sois couvert d'opprobre et méprisé de mes confrères si j'y manque !